



**CULTIVOS TRANSGÉNICOS Y DERECHOS
DE LA NATURALEZA**

Elizabeth Bravo
**Fundación Pro Defensa de la Naturaleza y sus
Derechos**

2019



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO UNO: LA INSTRUMENTALIZACIÓN DE LAS LEYES NATURALES PARA LA ACUMULACIÓN DEL CAPITAL

CAPÍTULO DOS: INGENIERÍA GENÉTICA EN PLANTAS

CAPÍTULO TRES: LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

CAPÍTULO CUATRO: GLIFOSATO Y EL PAQUETE TECNOLÓGICO DE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

CAPÍTULO CINCO: EL MODELO AGRÍCOLA DE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

Referencias

INTRODUCCIÓN

Dos hitos importantes establecen jurisdicción a favor de la vida y la naturaleza en la Constitución del Ecuador.

El primero es el reconocimiento de los derechos a la naturaleza. Este fue el punto de partida para un mejor relacionamiento entre las sociedades humanas y la naturaleza. El Preámbulo de la carta política anuncia que en el país se inicia *“una nueva forma de convivencia ciudadana, en diversidad y armonía con la naturaleza, para alcanzar el buen vivir, el sumak kawsay”*.

En este trabajo se va a usar como marco conceptual el Artículo 71 la Constitución del Ecuador, para analizar la transgénesis o otras nuevas biotecnologías moleculares, los cultivos transgénicos y sus impactos en los territorios a la luz de los derechos de la naturaleza:

“La naturaleza o Pacha Mama, donde se reproduce y realiza la vida, tiene derecho a que se respete integralmente su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos”.

Cuando las moléculas de ADN y todo el complejo bioquímico que interviene en la herencia de los seres vivos, incluyendo los procesos epigenéticos, son manipulados con el fin de alcanzar un nuevo producto industrial; es decir, se altera su estructura, se está también interviniendo en sus funciones y se están interrumpiendo los procesos evolutivos de los organismos. Esto impide el mantenimiento de los ciclos vitales naturales tanto del organismo, como de la forma como éste se relaciona con su entorno.

Otro componente de los derechos de la naturaleza comprende la prohibición de

la introducción de organismos y material orgánico e inorgánico que puedan alterar de manera definitiva el patrimonio genético nacional” (Artículo 73)

Los organismos transgénicos pueden alterar de manera definitiva nuestro patrimonio genético pues, a través del flujo de genes desde una planta transgénica a una especie silvestre o cultivada, puede haber contaminación genética, la misma que al incorporarse en el genoma, se transmitirá a las siguientes generaciones.

Pero además, los cultivos transgénicos promueven un modelo agrícola que transforma las plantas invasivas en súper malezas, los insectos benéficos en plagas, hace desaparecer de los agroecosistemas los agentes de control biológica natural y desplaza comunidades rurales y deteriora la salud de los pobladores que viven en su área de influencia; que favorece a grandes productores y corporaciones transnacionales, y hace imposible la convivencia armónica entre los seres humanos y el resto de especies con las que convivimos es este planeta.

El segundo hito es que en el Ecuador se hace el primer reconocimiento constitucional de los derechos de la naturaleza, y es además el primer país que se declara constitucionalmente como “Libre de Transgénicos”.

Estos dos importantes hitos se complementan, porque no puede haber derechos de la naturaleza, si en un país hay cultivos transgénicos y además se profundizan los derechos que tenemos todos los ecuatorianos y ecuatorianas de vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado, libre de contaminación y en armonía con la naturaleza, como lo dice el Art. 66(27) de la Constitución; y el Art. 83(6) que establece como responsabilidad de todos y todas respetar los derechos de la naturaleza.

Por otro lado, la Constitución establece prohibiciones concretas y sin ninguna ambigüedad, las mismas que son necesarias para la consecución de los derechos de la naturaleza. Se prohíbe “la introducción de organismos y material orgánico e inorgánico que puedan alterar de manera definitiva el patrimonio genético nacional” (Art. 73, párrafo 2).

Se prohíbe “el desarrollo, producción, tenencia, comercialización, importación, transporte, almacenamiento y uso (...) tecnologías (...) experimentales nocivas y organismos genéticamente modificados perjudiciales... los ecosistemas...” (Art. 15); y el Art. 401 prohíbe “la aplicación de biotecnologías riesgosas o experimentales”.

En cuanto a los deberes y fines del Estado, el Art. 276 (4) de la Constitución dice que es un objetivo del régimen económico “recuperar y conservar la naturaleza y mantener un ambiente sano y sustentable”.

El Art. 283 establece que las políticas económicas deben enmarcarse en “una relación dinámica y equilibrada entre sociedad, Estado y mercado, en armonía con la naturaleza”, en tanto que el Art. 319 dice que es deber del Estado promover “las formas de producción que aseguren el buen vivir de la población” y que debe desincentivar las “que atenten contra sus derechos o los de la naturaleza”.

El Art. 395 (1), incluye entre los principios ambientales, el deber de garantizar “un modelo sustentable de desarrollo, ... que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas”, mientras que el Art. 284 (4), impone a las autoridades estatales actuar dentro de “los límites biofísicos de la naturaleza”.

Art. 385 enmarca el sistema de ciencia y tecnología innovación y saberes ancestrales, “en el respeto al ambiente y la naturaleza”.

Además, hay la Cláusula Interpretativa que consagra el principio *in dubio pro natura* que dice: “En caso de duda sobre el alcance de las disposiciones legales en materia ambiental, éstas se aplicarán en el sentido más favorable a la protección de la naturaleza” (Art. 326:4).

Hay por lo tanto una interacción de mandatos constitucionales que consagran al Ecuador como un país libre de transgénicos, donde se reconocen, respeta y garantizan los derechos de la naturaleza.

Una pregunta válida en este contexto es ¿qué clase de legislación necesitamos para una aplicación plena de los derechos de la naturaleza, y para asegurar que el Ecuador sea un país libre de transgénicos?

Quiero citar a Cormac Cullinan, autor del libro “Naturaleza Salvaje”, quien dice que

A diferencia de muchas de las leyes actuales que buscan imponer la uniformidad, dominio y separación de la naturaleza, necesitamos desarrollar “leyes salvajes” que alberguen la creatividad humana y la conexión que tenemos con la naturaleza. Estas leyes salvajes deben balancear los derechos y responsabilidades humanas en relación con los demás miembros de la comunidad que constituye la Tierra... para de esa forma salvaguardar los derechos de todos los miembros de la comunidad de la Tierra y de esa forma mantener la integridad y funcionalidad de la comunidad (Cullinan, 2011: 281).

El sostiene que para escribir “leyes salvajes”, necesitamos conocer las leyes de la naturaleza.

En este texto se muestra cómo a partir del Siglo XX, las leyes de la naturaleza, o mejor aún, la investigación científica, ha sido funcional al desarrollo corporativo empresarial. Con el fin de maximizar sus ganancias, la industria financia investigación científica para conocer sus leyes y luego utilizarlas para sus fines, vulnerando sus derechos (tal como son descritos en la Constitución del Ecuador, puesto que se pone en riesgo sus procesos biológicos y evolutivos, su estructura y funciones).

A lo largo del texto se hará una revisión sobre las distintas fases de la modificación genética (y epigenética) y de los cultivos transgénicos, a la luz de la vulneración de los derechos de la naturaleza.

En el primer capítulo se hará un recorrido histórico sobre las concepciones epistemológicas que dieron lugar a la ciencia en la que se sustenta ingeniería genética y a sus hijos favoritos: los cultivos transgénicos. Andrés Carrasco, embriólogo argentino comprometido con la lucha de las comunidades en contra de la expansión de los cultivos transgénicos y las fumigaciones en su país, decía que la ciencia puede ser aliada de las corporaciones o estar al servicio de los pueblos.

Los problemas inherentes a la ingeniería genética, así como de las nuevas biotecnologías son analizado en el capítulo dos. Ahí se hará un repaso sobre cómo se hace un organismo genéticamente modificado y sobre los peligros de la nueva generación de productos biotecnológicos sustentados en tecnologías como la edición de genes, y otras; y cómo estas implican vulneraciones a los derechos de la naturaleza.

En el siguiente capítulo se identifican los problemas y vulneraciones a los derechos de la naturaleza inherentes a los cultivos transgénicos, específicamente de los que son tolerantes a herbicidas y a insectos, porque son los más extendidos en el mundo, en tanto que el capítulo cuatro se concentra de manera particular en el paquete tecnológico de los transgénicos y particularmente del glifosato, el herbicida más usado en el mundo, debido a la expansión de los cultivos resistentes a este agrotóxico.

Finalmente, en el capítulo cinco se tratan las vulneraciones a los derechos de la naturaleza relacionados con la expansión de los cultivos transgénicos (como es la deforestación) y muestra porqué el modelo en el que se sustentan los transgénicos promueven el cambio de uso de la tierra y su acaparamiento.

CAPÍTULO UNO

LA INSTRUMENTALIZACIÓN DE LAS LEYES NATURALES PARA LA ACUMULACIÓN DEL CAPITAL

La ciencia no es neutral ni objetiva.
La ciencia siempre tiene ideología y un sentido político.
La ciencia puede aportar a la liberación o al sometimiento.

Andrés Carrasco

Cormac Cullinan, autor del libro “Wild Law” sostiene que el “Derecho de la Naturaleza busca recontextualizar la gobernanza humana sobre los sistemas que conforman el macro-entorno que, a su vez, está regulado por el cosmos del cual formamos parte”. Propone entonces un acercamiento de la legislación a las leyes de naturales (lo que denomina “derecho salvaje”). Su propuesta es que toda violación a las leyes naturales, al derecho salvaje, constituye una violación a los derechos de la naturaleza (Cullinan, 2011).

Pero la naturaleza tiene muchas leyes, y cada día se desentrañan nuevos procesos biológicos, bioquímicos, meteorológicos..., que en algunos casos contradicen a otros que se creían verdades bien comprobadas por la ciencia formal. Pero en realidad, entre más se desentrañan esos secretos, menos se conoce realmente cómo funciona la naturaleza, porque esos descubrimientos se sustentan en una ciencia positivista que mira sólo las partes sin entender los grandes procesos naturales.

El problema es que cada uno de esos nuevos descubrimientos son instrumentalizados por la industria para obtener de ellos, productos industriales que aseguren su proceso de acumulación.

Los cultivos transgénicos constituyen uno de los ejemplos más claro sobre cómo la investigación científica y el conocimiento de las leyes de la naturaleza y su instrumentalización, han generado diversas biotecnologías a servicio de la industria. En cada uno de los distintos aspectos relacionados con su desarrollo: desde la manipulación genética en el laboratorio hasta su propagación en campo, hay vulneración de derechos de la naturaleza.

Y es que la genética, que es la madre de la ingeniería genética, tuvo un sesgo positivista desde su nacimiento. En su reseña sobre cómo nace y se potencia la ingeniería genética Ho (1998) señala a Gregorio Mendel y Charles Darwin como los pioneros, quienes pusieron las bases para desarrollo de la genética moderna y la teoría de la evolución de las especies, respectivamente. La convergencia de ambas teorías, se transformaría más tarde en el dogma bajo el cual se sustentó la biología molecular.

Gregorio Mendel simplificó la complejidad de la herencia, enmarcándola en una situación ideal, eterna y lógica. Su teoría (conocida como “Leyes de Mendel”) sostienen que:

- Cada organismo tiene características que están determinadas por unidades estables, llamadas *genes*. Cada una está representada por dos copias (alelos) que pueden ser iguales o diferentes.

- Cada organismo tiene una gran cantidad de genes.
- Los genes pasan sin cambios, de padres a hijos vía células reproductivas.
- Cada célula reproductiva tiene una sola copia de cada gen. Entonces, la combinación de los genes en cada célula ocurre al azar.
- Durante la fertilización, el cigoto resultante tendrá dos alelos de cada gen.
- La separación de alelos y la recombinación entre alelos de diferentes genes durante la reproducción ocurre de generación a generación.

Mendel desarrolla sus postulados, luego de una enorme cantidad de cruces con arvejas, apoyándose en las estadísticas. El aplicó varios conceptos y métodos de la física a la biología. A pesar de su importante contribución al entendimiento de la genética, ahora se sabe que muy pocos caracteres se heredan siguiendo las leyes de Mendel: son aquellos que están determinados por un sólo para de genes alelos y que se encuentran en cromosomas homólogos distintos.

Herencia no Mendeliana

Cada gen estudiado por Mendel en las arvejas venía en solo dos versiones diferentes, o alelos, y uno de estos alelos era claramente dominante, anulando totalmente al alelo recesivo. Ahora sabemos que: hay la dominancia incompleta (fenotipo de un organismo heterocigoto puede ser una mezcla entre los fenotipos de sus progenitores homocigotos), y que hay alelos múltiples para un mismo carácter.

Mendel sugirió que existen solamente dos alelos para cada gen. Hoy, sabemos que pueden existir alelos múltiples a nivel de población y diferentes individuos en la población pueden tener diferentes pares de estos alelos.

Están también los genes ligados que se encuentran en el mismo cromosoma., por lo que se expresan y segregan en conjunto. Por otro lado, los poligenes son grupos de genes que en conjunto son responsables de un solo carácter.

La epistasis es un tipo de interacción entre genes que regulan la expresión de un carácter en el fenotipo de un organismo, en tanto que pleiotropía es el efecto que tiene un gen (o grupo de genes), en caracteres distintos y no relacionados, que se expresan en el fenotipo de un organismo. Tenemos además la herencia ligada al sexo, la herencia mitocondrial y de los cloroplastos.

En fin, aunque Mendel no tenía por qué conocer todos estos nuevos procesos en los que se sustenta la herencia, y su contribución fue muy importante para la ciencia, el problema es que la ingeniería genética se basa en la introducción de un gen para obtener un resultado específico, ignorando toda esta complejidad... a eso se deben las fallas y graves impactos de esta tecnología.

La teoría de Darwin sobre el origen de las especies por selección natural, se basa en la idea de que las especies mejor adaptadas porque son seleccionadas por la naturaleza para dejar descendencia fértil. Esta es la base del determinismo genético que diera a luz no sola la ingeniería genética sino los programas de mejoramiento convencional que tuvo lugar a lo largo del siglo XX.

Las teorías de Darwin nacen de la situación política que se vivía en su país en el siglo XIX y de las siguientes teorías:

- Los organismos vivos están tan perfectamente adaptados a su forma de vida que deben haber sido diseñados por una inteligencia suprema.
- La larga práctica en la selección artificial (práctica llevada a cabo por mejoradores de plantas y animales), especialmente de palomas mensajeras.
- Las teorías de Malthus sobre el “Principio de las poblaciones” publicadas en 1798, mantiene que la alimentación aumenta en forma lineal en tanto que la población humana lo hace en forma geométrica. Se da por tanto una lucha por la sobrevivencia con el dominio del más apto.

El Neo-Darwinismo constituye el matrimonio entre la genética de Mendel y la teoría de la evolución de Darwin. A principios del siglo XX empieza la matematización de la teoría genética (ya iniciada en parte por Mendel).

1930-1960: La “síntesis neo-darwinista” constituye la unificación de las teorías de Mendel y de Darwin en una sola teoría, basada en modelos matemáticos.

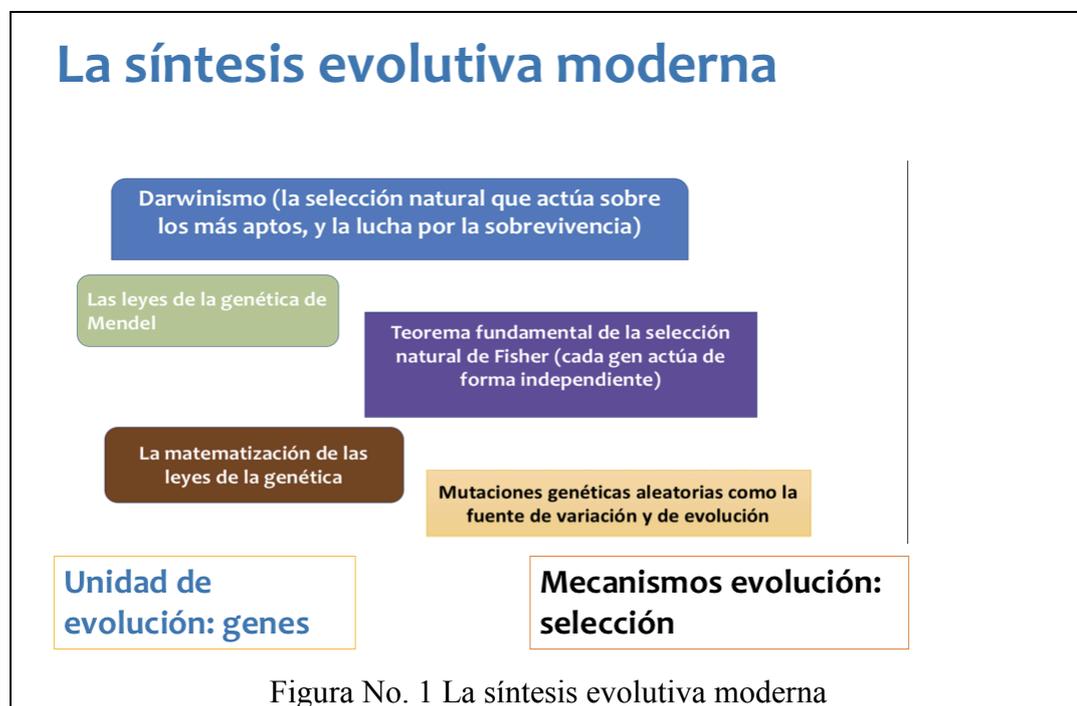


Figura No. 1 La síntesis evolutiva moderna

Teorema de la selección natural de Fisher: asume que cada gen actúa independientemente. Es usado hasta hoy en biometría genética. Esta teoría no representa lo que realmente ocurre en la naturaleza.

El Neo-Darwinismo plantea que un carácter está controlado por un gen que le confiere a un organismo una ventaja o una desventaja adaptativa. De esta manera, se va explicando cada uno de los caracteres en un organismo. Pero en realidad, un gen codifica una proteína, que es distinto de un carácter.

Otros aportes que condujeron a la manipulación de los genes fueron:

- La construcción de una maqueta de ADN (Watson y Crick) en base a fotografías de rayos X e identificación bioquímica del ADN.
- El dogma central es: ADN - ARN - proteína
- La secuenciación del ADN
- La elaboración de ADN recombinante en tubos de ensayos con enzimas de microorganismos
- La introducción de genes extraños en virus, plásmidos o elementos genéticos móviles (parásitos genéticos) en células que pueden reproducirse
- Síntesis química del ADN de cualquier secuencia deseada
- Reacción en cadena de polimerasas

El concepto de edición precisa del genoma y que conduce a un resultado biológico definido, depende de la concepción de que los genes dan lugar a productos simples. Sin embargo, no existe una ruta definida, discreta o simple a través de la cual un gen da lugar a una proteína. La mayoría de funciones génicas están reguladas mediante redes bioquímicas altamente complejas que dependen de un gran número de factores que las condicionan, como la presencia de otros genes y sus variantes, las condiciones del medio, la edad del organismo, el azar, etc. Ignorando estos hechos, los genetistas y biólogos moleculares han creado sistemas experimentales artificiales en los que las fuentes de variación ambientales o de otro tipo se ven minimizadas, para así no distraer del descubrimiento genético “realmente importante”.

De acuerdo a Regal (1998), en su historia sobre el debate de la biotecnología en Estados Unidos, la ingeniería genética surgió de la física y de la química, no de la biología, y añade que...

Estos científicos de la física que empezaron a re-arreglar las moléculas de la herencia sabían relativamente poco sobre los organismos vivos, y algunos de ellos empezaron a preocuparse sobre las limitaciones de sus propias disciplinas.

Regal añade que, en la década del setenta, hubo una preocupación por los peligros de la manipulación genética pero solo a nivel privado. Para la década del ochenta, la preocupación creció en torno a un claro conflicto de intereses entre la comunidad científica, pues muchos de los biólogos moleculares se habían convertido en empresarios y no solamente en consultores de la industria. Muchos de ellos establecieron empresas biotecnológicas, por lo que la línea que separaba al mundo académico, al gubernamental y al empresarial era cada vez más delgado. Esta es una tendencia que se mantiene hasta ahora.

El nacimiento de la biología molecular

Los primeros pasos que condujeron al desarrollo de la biología molecular fueron dados Jacques Loeb, quien luego que el dejó la Universidad de Chicago para trabajar en el Instituto Rockefeller en 1910, como jefe del departamento de fisiología. El, a través de sus experimentos de partenogénesis inducida por el ambiente, propuso un modelo de biología reduccionista, dominada por las leyes físico-químicas.

En los años 30, bajo el mando de los físicos Max Mason y Warren Weave, la Fundación *Rockefeller* empezó a reclutar físicos y químicos para crear una nueva ciencia que se

llamaría “biología molecular”. Warren Weave, que estaba a cargo de las ciencias agrícolas y biológicas, acuña el término de “biología molecular” y declara que esta nueva disciplina era la “química del gen”, bajo una visión profundamente reduccionista.

La idea de Weave (matemático de formación) era que la biología tenía muchos que aprender de la física y la química. A fines del siglo XIX con el surgimiento de la física cuántica, la ley de la relatividad, y otras, la universalidad de leyes fue cuestionada. Esto llevó a los científicos a abandonar la idea de investigar las leyes de la física, sino más bien a desarrollar cosas útiles para la industria a partir de sus descubrimientos, como la explotación de la energía nuclear a partir de la física cuántica. De igual manera, de acuerdo a Weave, la biología debía abandonar su investigación descriptiva, por eso financió a través de la FR, la transferencia tecnológica de las ciencias fisico-químicas a la biología experimental.

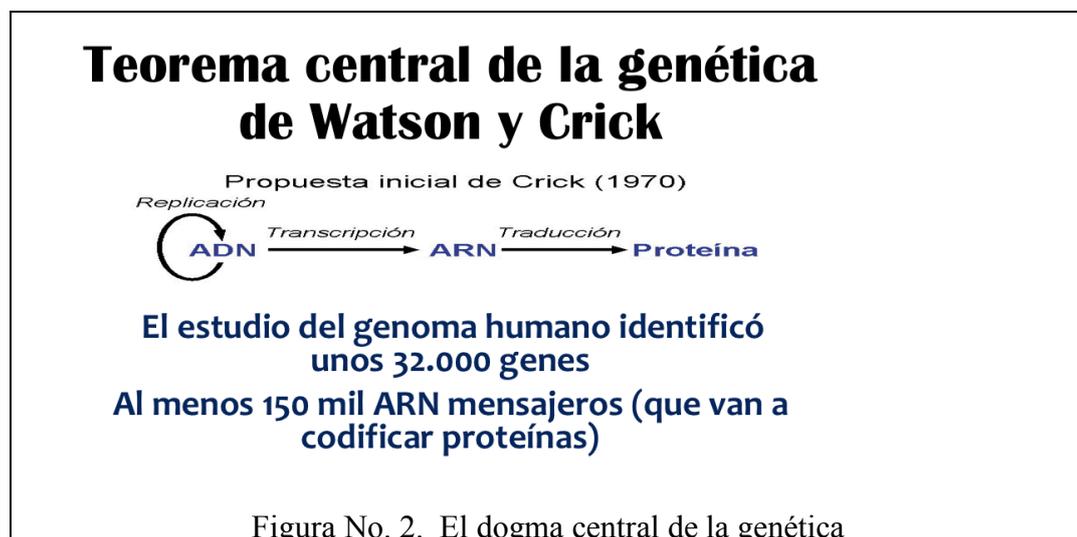
Muchos centros de investigación se beneficiaron de importantes fondos de la Fundación, pero fue en el Instituto de Tecnología de California Caltech, donde se centraron sus esfuerzos, creándose un grupo de científicos liderados por Thomas Hunt Morgan, fundador de la escuela de genética de Drosophila.

Desde su inicio, el departamento de Morgan fue un importante centro internacional para la investigación y capacitación en genética clásica al principio, luego molecular, con el apoyo de la Fundación Rockefeller. Kay sostiene que la genética molecular es el producto de una colusión entre Caltech y la Fundación Rockefeller emprendida con el propósito de adquirir "control social". La frase "control social" se popularizó a finales de siglo, nos dice Kay, por un sociólogo estadounidense preocupado por algunos de los problemas de su época.

En 1944, Avery, MacLeod y McCarty dieron pruebas sólidas de que los genes son ácidos nucleicos

Los siguientes pasos

A mediados del Siglo XX, Francis Crick (1970) propone el “dogma central de la biología molecular” que sostiene que todos los procesos biológicos están determinados por los genes, que toda proteína es el resultado de la expresión de un gen.



De acuerdo a este dogma, la información contenida en una molécula de ADN es transcrita en una molécula de ARN mensajero, que a su vez es traducida a una proteína, todo esto de manera lineal; pero con el estudio del genoma humano se encontró que el ser humano tiene unos 32.000 genes, lo que no concuerda con los 150 mil tipos de ARN mensajeros (que van a codificar proteínas). ¿

A qué se debe esta diferencia? Una manera de explicarla es que un alto porcentaje de genes tienen la capacidad de codificar múltiples proteínas, lo que pone en entredicho el dogma: un gen – una proteína (*International Human Genome Sequencing Consortium*, 2001).

¿Cómo funcionan los genes de acuerdo al dogma central?

La información genética de un individuo está escrita en su ADN y se organiza en genes. En el núcleo celular, estos genes *transcriben* la información genética contenida en su ADN a ARN mensajero (ARNm). Este ARNm abandona el núcleo y, en el citoplasma, se une al ribosoma, donde se *traduce* la secuencia de ARNm a una proteína/enzima.

Esta es el llamado “dogma central de la genética”, la misma que cada vez es más, refutada como una verdad única.

¿Es el ADN el único material hereditario que determina los rasgos que diferencian a un organismo de otro y que se transmite de generación en generación? ¿son las moléculas de ARN reproducciones fieles del ADN?

Un hallazgo reciente parece violar el dogma central: la secuencia de ARN no siempre son réplicas exactas del ADN. Un estudio del ARN de glóbulos blancos hecho en 27 personas diferentes, muestra que en promedio, cada persona tiene cerca de 4.000 genes en los cuales las copias de ARN contienen “faltas de ortografía” que no se encuentran en el ADN (Hesman, 2010). Los autores¹ del estudio concluyen que las moléculas de ARN no siempre son fieles reproducciones de las instrucciones del ADN; pues juegan un papel fundamental en el control y en cómo se realiza la síntesis de proteínas a partir de la información contenida en el ADN.

Con las investigaciones de la epigenética se ha encontrado que, en la síntesis de proteínas, influyen una gran cantidad de factores, incluyendo el ambiente celular y externo, el estrés. Algunos de estos cambios se conservan en la herencia, como ha sido ya comprobado con ratas, bacterias y plantas (Richards *et al.*, 2012). Las modificaciones epigenéticas abarcan una gran variedad de mecanismos que actúan en el paso de ADN a ARN, de ARN a proteína y luego de la síntesis de la proteína.

En el caso del ADN, éste es solo estable en el tubo de ensayo, pero no cuando se trata de poblaciones y organismos que se reproducen. No se puede reducir el comportamiento del ADN en los seres vivos a sus propiedades químicas en un tubo de ensayo. En los seres vivos, el ADN se “desestabiliza” por mutaciones, flujo de genes, recombinación, y otros mecanismos que fueron analizados en la sección anterior.

¹ El estudio fue hecho en la escuela de Medicina de la Universidad de Pennsylvania en Philadelphia.

Las nucleasas de sitio directo

Son complejos de enzimas que reconocen secuencias específicas de ADN en el genoma para cortarlos. El ADN cortado es reparado posteriormente por la reparación natural del ADN. Actualmente, estas enzimas se dividen en cuatro categorías: meganucleasas, dedos de zinc, TALEN y CRISPR. El producto final dependerá en gran medida del diseño de la proteína nucleasa de reconocimiento de ADN y de la plantilla disponible para su reparación. A pesar de que se cree que el reconocimiento que hace la nucleasa a la secuencia de ADN es muy preciso, hay muchas incertidumbres al respecto, así como a los mecanismos de reparación del ADN cortado, cuyo mecanismo aún no está totalmente entendido, pues varios factores que influyen tanto en la unión al ADN como en la reparación del ADN. Es muy difícil identificar los efectos no intencionales en un sistema que no se comprende completamente.

Agapito y Wikmark (2015).

En la década de 1970, cuando se empezaba a desarrollar la ingeniería genética, los científicos creían que el genoma era estático y que se podía modificar el fenotipo de un cultivo, a través de la simple inserción de un gen ajeno que codifique una proteína específica.

Desde esta visión se abrió el camino para la ingeniería genética, y se inició la era de la agro-biotecnologías y de la expansión masiva de los cultivos transgénicos.

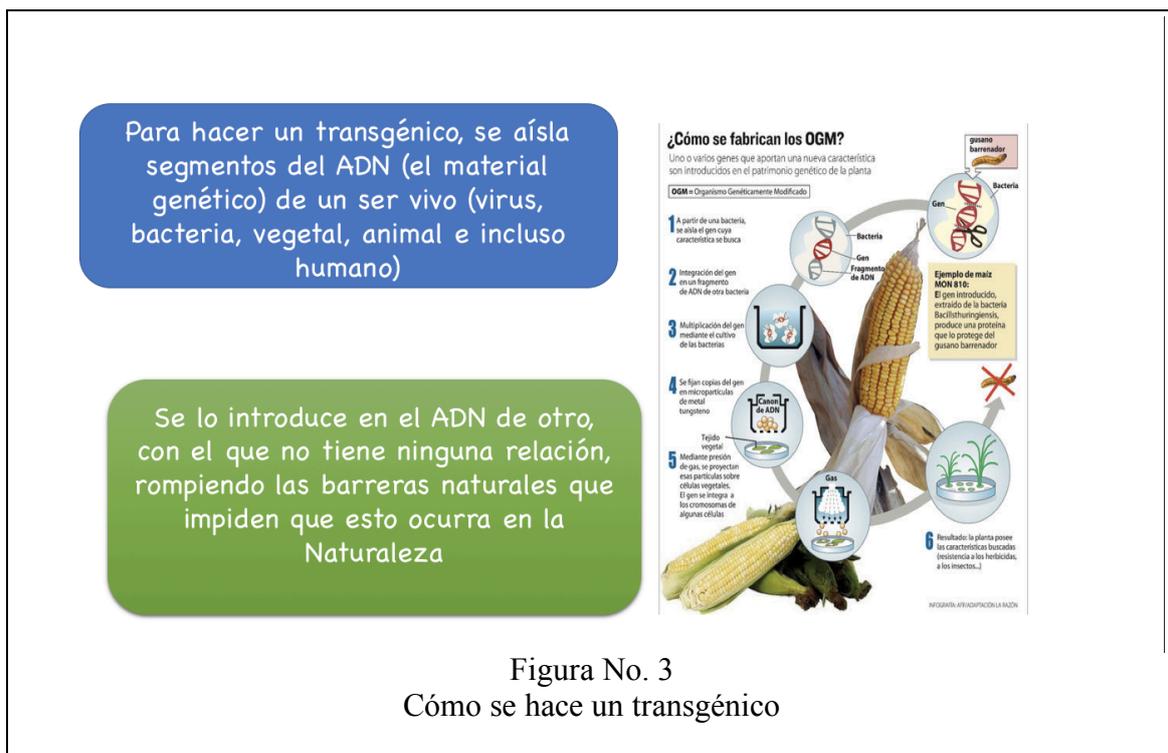


Figura No. 3
Cómo se hace un transgénico

Con el avance de la investigación científica en la década de 1980, se comprobó que el genoma es dinámico. Se encontró además que, con la inserción de un solo nuevo gen en una planta, puede surgir una cascada de consecuencias imprevistas.

Los científicos encontraron que no había manera posible de introducir un nuevo gen en un organismo único y obtener un solo resultado específico, puesto que los genes cambian rápidamente debido a una multitud de circunstancias, muchas de las cuales son aún desconocidas. Además, la transformación genética hecha a un organismo no se puede repetir en el laboratorio, aunque se utilicen los mismos procedimientos. Los niveles de inestabilidad de los organismos transgénicos de reciente creación son abrumadores, pero muchos los estudios científicos que lo demuestran han sido silenciados.

Los cultivos transgénicos sólo pueden hacerse en laboratorio, a través de una serie de métodos de ingeniería genética. El propósito es insertar en su ADN (la molécula donde se encuentra la información genética de casi todos los seres vivos), genes de otros organismos que no están relacionados filogenéticamente con ellos. Para ello, tienen que subvertir tantas reglas de la naturaleza, que su construcción es inherentemente peligrosa para la naturaleza y para los seres humanos, y son inestables.

Ya en los primeros años de la liberación de cultivos transgénicos al agro, se detectaron problemas en la construcción genética de los mismos. En la soya con resistencia a glifosato (soya RR - evento 40-3-2), que es la que más se siembra en el mundo, (Windels et al, 2001) encontraron la presencia de secuencias génicas no deseadas y las siguientes mutaciones: deleciones² a gran escala y re -arreglos del genoma. A más del gen EPSPS (que es el gen confiere a la planta la resistencia al glifosato), se encontró los siguientes segmentos no esperados:

- Un fragmento del gen EPSPS de 254 bp
- Un segmento de 540 bp de ADN no identificado
- Un segmento de ADN vegetal
- Un segmento de 72 bp de EPSPS

Estas mutaciones relacionadas con eventos de inserción no fueron dados a conocer sino solo después de que la soya RR había sido comercializada. Los transgenes fueron insertados en la soya a través de la tecnología de bombardeo de partículas, técnica que ha sido usado para crear numerosos cultivos comerciales.

La idea un gen una proteína ha sido superada por los nuevos conocimientos de la genética. Mae Wan Ho identifica los siguientes avances de la nueva genética, que son ignorados por quienes hacen y defienden la ingeniería genética: (Ho, 1998)

La genética tradicional

1. Los genes determinan las características linealmente (1 gen = 1 proteína)
2. Los genes no están influenciados por el ambiente externo
3. Los genes son estables y no cambian
4. Los genes permanecen estables donde se les pone

² Una deleción es un tipo de mutación genética en la cual se pierde material genético, desde un solo par de nucleótidos de ADN hasta todo un fragmento de cromosoma.

Los nuevos descubrimientos

1. Los genes funcionan en redes complejas, en forma no-lineal, multidimensional y circular
2. Los genes son sujetos de regulación del medio ambiente
3. Los genes son dinámicos y fluidos. Pueden cambiar en respuesta al medio ambiente
4. Los genes pueden saltar horizontalmente entre especies no relacionadas y recombinarse

La epigenética

Aunque la transgénesis parte de las ideas que predominaban en la genética a partir de mediados del Siglo XX (una proteína – un gen), ahora se ha demostrado que el ADN proporciona solo parte de la información que respalda un rasgo, ya que la cromatina³ también contribuye, y que la expresión génica está influenciada por factores ambientales tanto dentro como fuera de la célula. Esto es materia de estudio de la epigenética.

El término epigenética fue acuñado por Conrad Waddington, luego de que logró demostrar que una característica adquirida en una población de la mosca de la fruta, en respuesta a un estímulo ambiental podía ser heredada (Waddington, 1956). La epigenética podría definirse como los cambios hereditarios que no se deben a cambios en la secuencia del ADN (Hoppeler, 2015).

La epigenética es un proceso altamente dinámico, que puede ser influenciado tanto por el medio ambiente interno (desarrollo, hormonales y nutricionales) como externos (climáticos y señales de patógenos y químicos como plaguicidas y antibióticos) y que determina la progresión del ciclo de vida de la planta.

Se conocen los siguientes mecanismos moleculares relacionados con la epigenética.

- Metilación de las citosinas en el ADN
- Metilación del ADN
- Modificación post-transcripcional (acetilación, metilación, fosforilación, etc.) de proteínas histonas.
- Micro ARN no codificantes

El llamado epigenoma está formado por la histona H1, proteínas no histonas y los ARN reguladores (que no codifican proteínas denominados ARN no codificantes o ncARN), y que definen distintos estados de la cromatina epigenética a lo largo del genoma (ya sea por el tipo de célula en el organismo, o en respuesta a señales ambientales). La cromatina es una estructura altamente dinámica, que transporta información variable, a diferencia del ADN que es muy estable. No obstante, la cromatina está condicionada en parte por la secuencia de ADN. La variación epigenética puede ser importante entre especies silvestres y cultivadas y los epigenomas pueden potencialmente variar ampliamente entre especies relacionadas.

En consecuencia, la transferencia de un rasgo de interés de especies silvestres a cultivadas (por ejemplo, a través de transgénesis) no sólo requiere la transferencia del ADN asociado

³ La cromatina es el sustrato natural sobre el que tienen lugar las transacciones de ADN dentro del núcleo de las células eucariotas. Su unidad básica es el nucleosoma, que contiene aproximadamente 150 pb de ADN envuelto alrededor de un núcleo de ocho proteínas histonas.

con este rasgo, sino también el establecimiento de los estados de cromatina / epigenética apropiados sobre esta parte del ADN para permitir que el rasgo se exprese igual que en la planta de origen.

La industria ya ha identificado algunas rutas para inducir la variabilidad epigenética en las plantas. De acuerdo a los colectivos “Grupo de Interés Científico Biotecnología Verde” y “Animación Científica Biotecnología Vegetal” (GIS BV et al, 2017), estas rutas son:

- En el campo farmacológicos, se han caracterizado inhibidores de proteínas que participan en el silenciamiento epigenético. Hay tratamientos que incluyen inhibidores de enzimas que intervienen en la metilación del ADN, aunque parece que esta reducción no se transmite a la progenie.
- Hay un medicamento llamado tricostatina A (TSA) que puede inhibir a las histonas deacetilasas, que eliminan activamente las marcas de acetilación de las histonas y contribuyen a la represión de genes, reactivando genes silenciados
- Se trabaja también con la interrupción de los genes que codifican reguladores epigenéticos claves. De hecho, se han producido numerosos *epialelos* hereditarios en plantas de *Arabidopsis* con mutaciones en dos genes involucrados en el mantenimiento de la metilación del ADN. Se trabaja en obtener los genes correspondientes en cultivos.
- Se ha encontrado que diversos tipos de estreses abióticos y bióticos pueden inducir cambios epigenéticos en las plantas. Controlar estas variaciones, aún es difícil, pero se intenta trabajar con el silenciamiento epigenético y el control de genes sensibles al estrés.
- Con la tecnología llamada la tecnología molecular llamada CRISPR-Cas9 (que será analizada más adelante), se pueden inducir cambios en la metilación del ADN y modificar histonas, produciéndose cambios epigenéticos específicos en los sitios de interés.

Todas estas propuestas invaden campos muy íntimos de la estructura y funcionamiento celular, y que pueden ser aplicadas a una inmensa gama de organismos vivos que van desde microorganismos, plantas, animales y seres humanos.

Para alcanzar los objetivos que se ha propuesto la industria en el campo de la epigenética, el Grupo de Interés Científico Biotecnología Verde y el Grupo de Animación Científica de la Biotecnología Vegetal de Animación (2017) proponen:

- Establecer diseños experimentales en cultivos para identificar los genes relacionados con el estrés y el “paisaje” de la cromatina de estos genes
- Comprender el impacto del medio ambiente sobre los estados epigenéticos, por ejemplo, identificar qué tipo de restricciones ambientales naturales inducen cambios en la cromatina
- Identificar si hay diferencias en la respuesta entre los distintos órganos de la planta o durante las distintas etapas del desarrollo
- Comprender cómo las plantas pueden cambiar su fenotipo (plasticidad fenotípica) a partir de señales ambientales, a través de la modificación de las marcas en la cromatina., y cuáles son las consecuencias para el “fito mejoramiento”

Hoy, la epigenética aplicada al campo de la salud, es un mercado que fue valorado en 3,08 mil millones de dólares en 2016, y que muestra un crecimiento muy alto, pues se espera que se convierta en un mercado de 8.580 millones de dólares para 2021 con una tasa de crecimiento del 26,85% anual.

Aunque es la industria farmacéutica es la que ha desarrollado más productos relacionados con la epigenética, el sector agroindustrial también ha incursionado con fuerza en este tema. Hay varias iniciativas públicas y privadas para hacer investigaciones epigenéticas en el maíz, la palma de aceite, la remolacha azucarera y el álamo.

Conclusiones

A lo largo del Siglo XX, gran parte de la investigación científica se hace para desarrollar a partir de los conocimientos generados, aplicaciones con interés corporativo. Esto se agrava dado que cada vez son las corporaciones las que financian la investigación científica / tecnológica, y por lo mismo, deciden sobre las agendas de investigación.

Dado que el interés de las empresas es la acumulación, el rumbo de la investigación científica no se orienta a resolver problemas reales, sino que, en muchos casos, los crea con el fin de desarrollar nuevos artefactos tecno-científicos para solucionar los problemas creados por los primeros, y que a su vez generan nuevos.

El ejemplo más claro de lo dicho constituye el modelo de agricultura industrial que se impuso en el mundo, sobre todo a partir de la Segunda Guerra Mundial. Primero tuvimos la Revolución Verde que impuso de manera agresiva en varios países del Tercer Mundo, uno modelo agrícola basado en semillas de alto rendimiento, agrotóxicos, fertilizantes sintéticos y mecanización, lo que potenció a la industria semillera y de insumos y maquinaria agrícolas internacional.

Este modelo generó una serie de problemas, como la emergencia de una mayor cantidad de plagas y malezas... y la respuesta fue la profundización del modelo a través de la revolución biotecnológica con sus semillas transgénicas, que presenta una gran cantidad de problemas, que son resueltos con nuevos transgénicos, cada vez más peligroso. En esta etapa, la tecnociencia juega un papel vital, ya ésta no es posible sin el trabajo hecho desde los laboratorios de los más importantes centros de investigación.

Y en medio de todo esto, ¿qué pasa con la naturaleza?

Entre más se profundiza en el conocimiento de los procesos biológicos y sus complejidades, se avanza con mayor agresividad en la vulneración de los derechos de la naturaleza, tal como son descritos en el Art. 71 de la Constitución del Ecuador. Aquí hemos visto como a partir de las leyes de la herencia de Mendel y la teoría de la evolución de Darwin se inició un camino que culminó en los organismos transgénicos y la manipulación de la epigenética.

En los capítulos siguientes se analizará con detalle los peligros que se desprenden a partir de esta ruta iniciada en el Siglo XIX, y las vulneraciones de los derechos de la naturaleza.

CAPÍTULO DOS

INGENIERÍA GENÉTICA EN PLANTAS

En este capítulo se hará una revisión sobre cómo la transgénesis, la manipulación genética constituye una vulneración a los derechos de la naturaleza en cada uno de los componentes identificados por la Constitución del Ecuador, en su artículo 71.

¿QUÉ SON LOS TRANSGÉNICOS?

Los llamados “transgénicos” son organismos vivos creados artificialmente, a través de la manipulación de sus genes con ingeniería genética. Se trata de un proceso que sólo puede realizarse en condiciones de laboratorio, ningún campesino puede obtener semillas transgénicas con métodos convencionales de mejoramiento de semillas.

Para hacer un transgénico se aísla segmentos del ADN (el material genético) de un ser vivo (virus, bacteria, vegetal, animal e incluso humano) para introducirlos en el material hereditario de otro, con el que no tiene ninguna relación, rompiendo las barreras de Género, Familia y hasta Reino.

Para hacer un transgénico se aíslan segmentos del ADN (el material genético) de un ser vivo (virus, bacteria, vegetal, animal e incluso humano), para introducirlos en el material hereditario de otro; por ejemplo, se puede poner genes de virus, bacterias y escorpiones en plantas de maíz. Y hasta genes humanos en plantas de arroz. El resultado es un transgénico.

CREACIÓN DE UNA CONSTRUCCIÓN GENÉTICA

Para crea una “construcción genética”, que son los segmentos de ADN necesario para hacer un organismo genéticamente modificado, se necesitan varios elementos genéticos:

El vector “transporta” los genes externos hacia las células del organismo huésped y facilita su introducción en el genoma de las células. Son los vehículos que permiten introducir los transgenes. Muchos vectores se derivan de virus o plásmidos de bacterias causantes de enfermedades graves. Como vectores se usan parásitos genéticos que en la naturaleza pueden invadir células, causando daños genéticos. Los vectores están diseñados para romper las barreras de especies y facilitar la transferencia horizontal de genes.

Los vectores permiten que los transgenes sea introducidos en plantas, animales y microorganismos. Es el vehículo que permite transportar los transgenes hacia el organismo que se quiere manipular.

Un vector muy usado en ingeniería genética es el plásmido de *Agrobacterium tumefaciens*. El plásmido es un pedazo de ADN que se inserta en el ADN de una célula de plantas e inicia un tumor. La bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, usada en la construcción de los organismos transgénicos, contiene un pedazo pequeño de ADN que puede insertarse en el ADN de una célula de plantas e iniciar un tumor.

En la naturaleza, *Agrobacterium* puede no representar un peligro pero para las personas que trabajan con grandes concentraciones de esta bacteria, por ejemplo, investigadores en laboratorios o ciertos trabajadores agrícolas que están en contacto con plantas altamente infectadas, puede ser prudente el ser cuidadoso o por lo menos deben estar advertidos.

¿Qué pasa con los millones de hectáreas sembradas ya con cultivos transgénicos en los que se ha incorporado estas secuencias genéticas de *Agrobacterium tumefaciens*?

En otros casos se usa la electroporación de protoplastos (para la modificación genética de células sin pared celular), la microinyección y la biobalística, que son técnicas de transformación que atacan físicamente al núcleo de la célula. En los pocos estudios existentes al respecto, se ha encontrado que la introducción de transgenes a través del bombardeo de partículas, puede insertar múltiples copias de secuencias cortas y largas de ADN que no son deseadas.

El *promotor* permite la expresión del gen externo en el nuevo organismo. Permiten que el organismo manipulado genéticamente, reconozca como propio los transgenes extraños. En la mayoría de casos se utiliza a un promotor del Virus del Mosaico de la Coliflor CaMV.

Cuando se empezó a usar CaMV, se creía que era un simple promotor, un "interruptor" de la expresión génica. En 1999, sin embargo, se descubrió que el "promotor" CaMV 35S era además un "hotspot", un sitio donde la recombinación es más frecuente. En 2011 se descubrió que producía grandes cantidades de pequeños ARNs, que probablemente funcionan como señuelos para neutralizar el sistema inmune de la planta (Blevins et al., 2011). Incluso un año más tarde las autoridades descubrieron que contenía un gen viral superpuesto, cuyas funciones aún se están determinando (Podevin y du Jardin, 2012). ¿Llegaremos en algún momento a saber lo suficiente sobre cualquier secuencia de ADN para describir los cambios que realicemos sobre ella como "ediciones"?

Tiene una zona altamente recombinante, y utiliza el aparato bioquímico de la planta. Esto hace que aumente su capacidad de transferencia horizontal, con potenciales riesgos para la salud.

El *marcador genético* permite controlar el éxito del proceso de manipulación genética. Dado que las técnicas de ingeniería genética son imprecisas e ineficientes y que la integración de los genes externos puede ocurrir en lugares no previsible dentro de los cromosomas de un organismo huésped, sólo una pequeña fracción de las células tratadas los integrarán exitosamente. Por ello, se usan marcadores para evaluar qué células han aceptado la modificación genética. Es entonces necesario seleccionar las células que han integrado los genes externos.

Para eso, se usan generalmente antibióticos a fin de matar las células que no han integrado los genes externos. Las células que los han integrado, sobrevivirán porque poseen el gen marcador de resistencia al antibiótico.

Hasta el momento, y luego de dos décadas años de liberaciones comerciales, se producen apenas dos tipos de transgénicos: los que tienen *resistencia a herbicidas* y los *cultivos insecticidas*, o Bt. Hay además una nueva generación de cultivos a los que se les ha insertado tanto genes de resistencia herbicidas como a insectos, y se los llama transgénicos con *genes apilados*.

A los *cultivos Bt*, a los que se les ha insertado genes de una bacteria que vive naturalmente en el suelo y que produce toxinas insecticidas (se llama *Bacillus thuringensis*, por eso a estos cultivos se los conoce como Bt). Esta bacteria fue usada por muchos años en agricultura orgánica. Hoy, se han introducido los genes que producen esta toxina en algunos cultivos (conocidos como cultivos Bt), convirtiéndolas en "plantas insecticidas". Al momento se comercializa maíz Bt, algodón Bt y soya Bt (Grønsberg et al, 2011).

Otros dos fenómenos reportados en relación a los cultivos Bt es el apareamiento de superplagas resistentes a las toxinas Bt, y la presencia de las toxinas Bt o de los transgenes en las cadenas tróficas Grønsberg et al, 2011).

Este es un modelo altamente concentrador de la tierra, y afecta a todo el sistema productivo y natural de las zonas donde es aplicado, empezando por el inicio de la cadena trófica, que son las plantas, hasta los procesos de descomposición y el ciclo de nutrientes. Tanto los cultivos con tolerancia a glifosato, como el glifosato actúan a nivel del ciclo metabólico del ácido chiquímico, produciendo impacto en las plantas y microorganismos, pero también en los organismos que se alimentan con base a ellos (Séralini *et al*, 2012).

El uso intensivo de herbicidas produce destrucción de la vegetación distinta a la que se quiere controlar por efecto de la deriva, afectando a toda la cadena trófica por un efecto en cascada que conduce a la destrucción del hábitat, sitios de alimentación, reproducción, apareo, anidación de aves y mamíferos.

La contaminación de los cuerpos de agua superficial ya sea por aspersión directa, por efecto de la deriva, o por lixiviación a los acuíferos, puede persistir por mucho tiempo en los sedimentos, afectando al fito y zoo-plancton y luego, a toda la cadena trófica, provocando muertes o crecimiento anormal en reptiles, peces, invertebrados acuáticos, etc.

EL PROMOTOR DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA COLIFLOR

El virus del mosaico de la coliflor afecta a plantas, causando unas lesiones tipo mosaico. Fue descubierto en 1921 en la col china.

El uso del promotor CaMV 35S en la ingeniería genética de plantas fue muy temprana. No todos los genes se expresan en una célula, ni lo hacen todo el tiempo. Esto está controlado por los promotores que actúan como “interruptor” de genes. Cuando los biotecnólogos descubrieron que CaMV 35S actuaba como promotor en las células de casi todas las especies, fue introducido rápidamente como un instrumento importante en la transformación genética.

El promotor 35S del CaMV, ha sido usada por más de veinte años en las plantas transgénicas comercializadas masivamente.

En 1999, descubrió que el “promotor” CaMV 35S era además un “punto caliente” donde la recombinación es más frecuente. En 2011 se descubrió que producía grandes cantidades de pequeños ARNs, que probablemente funcionan como señuelos para neutralizar el sistema inmune de la planta (Blevins et al, 2011).

Cisgénesis e intragénesis

El término cisgénesis fue acuñado por Schouten y Jacobsen en 2006 para describir la modificación genética hecha en un organismo vivo, al que se le inserta un gen con las

mismas técnicas de biología molecular, pero que proviene de otro organismo sexualmente compatible.

Al usarse las mismas herramientas moleculares que en la transgénesis, en las plantas cisgénicas se incluye siempre secuencias transgénicas como es el promotor del virus del mosaico del coliflor (CaMV), porque es mucho más potente que los promotores de las propias plantas. De la misma manera, se utilizan genes marcadores con resistencia a antibióticos, como se usa en la creación de plantas transgénicas.

A esta tecnología se le da el nombre de “cisgénesis”, porque se usan secuencias reguladoras de la misma especie o compatibles. A pesar de usar secuencias de ADN de la misma especie, los impactos y riesgos de los organismos resultantes son iguales a los que producen los transgénicos, porque en ambos casos se mueven genes de su posición original con técnicas moleculares, que solo es posible hacerlo en laboratorios.

La cisgénesis y la intragénesis son básicamente lo mismo que la transgénesis, pero en lugar de obtener la secuencia de ADN de una especie totalmente diferente o de inventar una secuencia nueva de ADN sintético, la secuencia de ADN insertada se obtiene de la misma especie o de una especie emparentada, con la que la planta debería, al menos en teoría, ser capaz de cruzarse. En la “cisgénesis”, el ADN insertado tendrá la secuencia exacta de un gen hallado en un organismo donante emparentado⁴.

En la “intragénesis”, la secuencia del gen insertado es una construcción genética, compuesto de secuencias y elementos de distintos genes de una o más especies emparentadas⁵.

El que la secuencia de ADN venga o no de especies emparentadas resulta irrelevante, dado que el proceso de ingeniería genética es el mismo, con los mismos riesgos e incertidumbres que la transgénesis, porque habrán:

- integraciones aleatorias del ADN transferido, capaz de alterar otro gen o interferir con la regulación de genes vecinos (efectos de posición).
- mutaciones en el sitio de inserción y a lo largo de todo el genoma como consecuencia del proceso de transformación, incluyendo los efectos del cultivo celular en laboratorio. Esto puede suponer deleciones, reordenaciones y multiplicaciones de secuencias de ADN.
- posible silenciamiento génico del gen introducido o de los propios genes de la planta si las secuencias promotoras presentan una alta similitud (homología).

En relación a la cisgénesis: el hecho de que el gen insertado venga de una especie emparentada no es garantía de que no vaya a haber efectos imprevistos o impredecibles, dado que este gen en concreto y su producto no han estado presentes en este contexto genético o en esta posición. Por tanto, podría expresarse de forma diferente a como se expresaba en la planta de la que se ha obtenido, y/o interactuar (por ejemplo interfiriendo) con rutas metabólicas o de regulación génica más amplias. Esto puede dar lugar a alteraciones en el comportamiento y rendimiento, mayor susceptibilidad a enfermedades,

⁴ El ADN insertado no se obtiene directamente del organismo donante, sino que se sintetiza in vitro o se amplifica en la bacteria *Escherichia coli*, una bacteria utilizada en ingeniería genética

⁵ Por ejemplo, el promotor, la secuencia codificante y la secuencia terminal pueden obtenerse de diferentes genes y especies.

mayor capacidad de reproducirse o de resultar invasiva, alteración de la composición de moléculas de señalización⁶, nutrientes, toxinas o alérgenos.

En relación a la intragénesis: las secuencias de ADN combinadas en un gen de este tipo no existen en la naturaleza. Su comportamiento e interacciones no pueden predecirse simplemente por conocer la secuencia de ADN o por saber que estas secuencias se han obtenido de organismos emparentados.

El uso de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*

La bacteria *Agrobacterium tumefaciens* ha sido utilizada como la herramienta más usada para la transformación genética en la ingeniería genética de plantas, desde hace décadas. Las nuevas técnicas de edición de genes, que se basan en herramientas como CRISPR, a menudo implican también el uso de *Agrobacterium*.

El método más común para insertar secuencias de ADN con propiedades deseables para la agroindustria (como la resistencia a herbicidas), es usar la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Hace varias décadas, se descubrió que cuando esta bacteria causaba tumores de la vesícula coronaria en los troncos de los árboles, parte del ADN de la bacteria se transfería al ADN del árbol. Se encontró que el ADN de transferencia de la bacteria (T-ADN), una pieza circular de ADN o plásmido, que se puede unir con otras secuencias de ADN, se dispersa por todo el árbol. Desde entonces, los investigadores han utilizado el ADN-T de esta bacteria como vector de los genes deseados a todo tipo de organismos.

Manipulación genética de plantas a través de *Agrobacterium tumefaciens*

Esta metodología tiene, sin embargo, un problema de falta de precisión. Los investigadores no están seguros de lo que sucede exactamente en las células transformadas. Los recientes avances en las técnicas de secuenciación del ADN llevaron a algunos científicos a sospechar que la estructura y la química del ADN del huésped podrían cambiar más de lo que se pensaba originalmente debido a las interacciones desconocidas con el ADN-T, así como a la cantidad y longitud del ADN-T transferido.

Los biotecnólogos simplemente prueban el nuevo organismo, buscan los nuevos rasgos deseados y, si están presentes, consideran que el proceso se considera un éxito. Pero, hay que preguntarse, ¿qué efectos genera la aplicación de esta tecnología en la bioquímica y genética de los seres vivos expuestos a ella?

Un estudio del Instituto Salk (California), publicado en enero 2019 en la revista PLOS Genetics, trataron de responder esta pregunta, usando una combinación de nuevas técnicas, conocidas como secuenciación de nanoporos y mapeo óptico.

El estudio descubrió:

⁶ Las moléculas de señalización transmiten información entre las células y los tejidos en organismo multicelulares. Pueden ser moléculas simples o proteínas complejas, como las hormonas del crecimiento. Otra categoría son los llamados semio-químicos, que transportan mensajes entre distintos individuos de la misma especie o de especies diferentes.

- a) la inserción de nuevos genes en una planta que utiliza esta bacteria como vector, lo que puede crear importantes efectos no deseados en el genoma, pues se identificaron múltiples inserciones genéticas completas y parciales,
- b) se detectaron numerosos reordenamientos grandes del genoma de la planta
- c) se identificaron cambios epigenéticos, lo que afecta a la regulación de los genes.

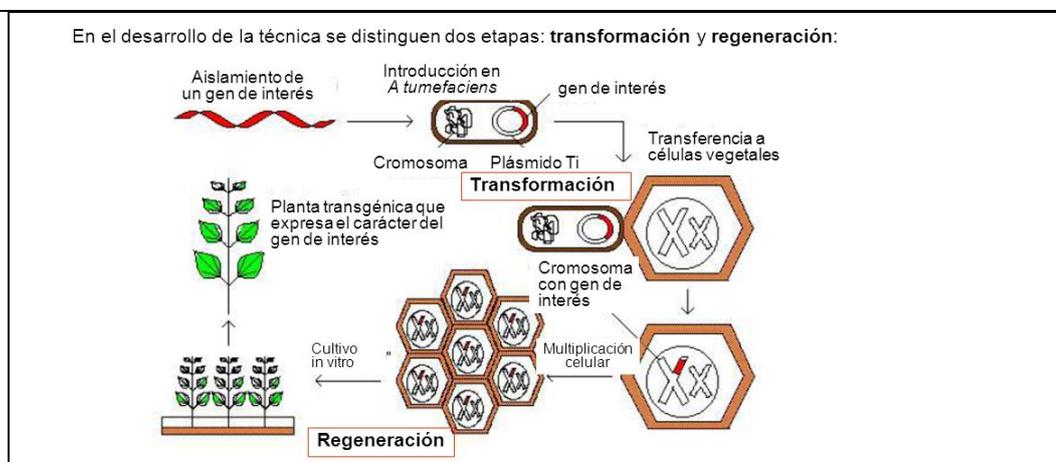
Todo esto podría generar una amplia gama de efectos, que van desde el silenciamiento del transgén introducido, hasta las alteraciones en función de los sistemas de múltiples genes del huésped. Es probable que estos efectos produzcan alteraciones sustanciales en la expresión génica general y cambios consecuentes en la bioquímica, la composición y las características de crecimiento de las plantas transgénicas.

Estos hallazgos no permitirán a los ingenieros genéticos prevenir el daño del ADN, sino solo detectar más fácilmente las líneas en las que causaron daños involuntarios. Además, el aumento de la eficiencia en la eliminación de aquellas plantas transgénicas con el daño genético y / o epigenético más fuera del objetivo no garantizará un buen rendimiento de los cultivos y la seguridad de los alimentos. Esto se debe a que incluso pequeños cambios en la función de los genes pueden provocar alteraciones impredecibles importantes en la bioquímica de la planta y, por lo tanto, en su fisiología.

Se necesitan pruebas genéricas para detectar los efectos tóxicos inesperados generados durante el proceso de modificación genética, tanto los que ocurren en los cultivos transgénicos que ya se cultivan en algunos países del mundo, como aquellos en los que se aplican nuevas tecnologías, como es la edición de genes.

Además, en el proceso de cultivo de tejidos, que es una parte obligatoria de todos los procesos de ingeniería genética, incluida la edición de genes, causa mutaciones a gran escala. Así que las implicaciones del nuevo artículo de los investigadores de Salk son que las mutaciones inducidas por el cultivo de tejidos, añadirán más daños a los causados por el proceso de transformación genética mediado por *Agrobacterium*.

Fuentes: Jupe et al. (2019).



LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS MOLECULARES

En los últimos años, la industria ha invertido fuertemente en el desarrollo de nuevas tecnologías moleculares, con el fin de incrementar su capacidad de realizar cambios más profundos y complejos en la composición genética de los seres vivos y en sus rutas metabólicas, y con ello aumentar su control sobre la vida.

Al igual que los transgénicos, todas estas nuevas tecnologías moleculares alteran la estructura y funciones de la molécula viva, la forma como estas se relacionan con su medio ambiente inmediato (epigenética), trastocando los ciclos biológicos y evolutivos.

El desarrollo de estas nuevas tecnologías obedece al fracaso de la primera generación de transgénicos, que se concentró en cultivos resistentes a insectos y herbicidas, lo que ha dado como resultado la emergencia de súper-malezas y súper-insectos, muy difíciles de controlar. Mucha de la investigación sobre estas nuevas tecnologías se centran en revertir la resistencia de las malezas a los herbicidas, y en el desarrollo de insectos que produzcan descendencias inviabil⁷, de tal manera que los antiguos transgénicos puedan seguir estando vigentes, al igual que su paquete agrotóxico.

Estas nuevas tecnologías moleculares tienen sus propios riesgos e incertidumbres. Algunas de ellas incluyen las mismas técnicas de ingeniería genética previas (con sus propios impactos), pero además existen algunas preocupaciones adicionales graves. Hay por ejemplo, posibles impactos para el medio ambiente y la salud de la metilación de ADN dependiente de ARN (RdDM). De igual modo, la utilización de técnicas de edición génica conocidas de manera genérica como Las nucleasas de sitio directo (como las ZFN y la ODM, así como CRISPR y TALEN) añade un nuevo grado de incertidumbre.

Las nucleasas de sitio directo

Son complejos de enzimas que reconocen secuencias específicas de ADN en el genoma para cortarlos. El ADN cortado es reparado posteriormente por la reparación natural del ADN. Actualmente, estas enzimas se dividen en cuatro categorías: meganucleasas, dedos de zinc, TALEN y CRISPR. El producto final dependerá en gran medida del diseño de la proteína nucleasa de reconocimiento de ADN y de la plantilla disponible para su reparación. A pesar de que se cree que el reconocimiento que hace la nucleasa a la secuencia de ADN es muy preciso, hay muchas incertidumbres al respecto, así como a los mecanismos de reparación del ADN cortado, cuyo mecanismo aún no está totalmente entendido, pues varios factores que influyen tanto en la unión al ADN como en la reparación del ADN. Es muy difícil identificar los efectos no intencionales en un sistema que no se comprende completamente.

Agapito y Wikmark (2015).

TECNICAS DE EDICIÓN GÉNICA

Se han desarrollado tres plataformas moleculares diferentes para la edición epigenética: proteínas de dedos de zinc (ZF), efectores de tipo transcriptor activadores (TALE) y el

⁷ Sin embargo, mucha de la investigación en este campo se centra en artrópodos vectores de enfermedades.

sistema de proteínas de Repeticiones Palindrómicas⁸ Cortas Agrupadas y Regularmente Interespaciadas (CRISPR) y asociadas a CRISPR (Cas)⁹.

Estas plataformas sirven como dominios de unión a ADN personalizados¹⁰ que se fusionan con los dominios de modificación epigenética para manipular las marcas epigenéticas en sitios específicos en el genoma. La adición y / o eliminación de modificaciones epigenéticas reconfigura la estructura de la cromatina local, con el potencial de provocar cambios duraderos en la transcripción de genes.

CRISPR -Cas

El sistema CRISPR-Cas, utiliza un mecanismo que algunas bacterias han desarrollado a lo largo de la evolución para defenderse a infecciones virales, y las instrumentalizan a servicio de la biotecnología; como señala Lluís Montoliu, investigador del CSIC en el Centro Nacional de Biotecnología de Madrid

“Las bacterias han hecho el trabajo por nosotros y nos dan unas proteínas listas para usar que son estupendas”¹¹

CRISPR-Cas es un sistema de inmunidad de los procariotas, presente en gran parte de las bacterias y todas de las arqueas, que representa un tipo de memoria molecular transmisible de forma hereditaria.

El sistema CRISPR actúa recopilando y almacenando fragmentos de material genético de bacteriófagos y plásmidos invasores, que transcriben en forma de crRNA (o ARN guía). Son estos RNA guías los que actuarán como guía de unas enzimas conocidas como endonucleasas Cas de la célula hospedadora, que en procesos infectivos posteriores degradarán el ARN o ADN foráneo diana, siempre que éste presente una secuencia complementaria al crRNA. En resumen, se trata de:

- un complejo molecular formado por un componente proteico Cas9 con actividad de nucleasa, que corta el ADN
- un ARN, conocido como ARN guía, que dirige a la proteína Cas hacia la secuencia de ADN que se quiere editar

El complejo Cas-crARN fue obtenida para su desarrollo biotecnológica de la bacteria *Streptococcus thermophilus*.

Este locus presenta dos componentes diferenciados:

- El complejo Cas, que contiene las regiones codificantes de las endonucleasas y otras proteínas de unión al ADN

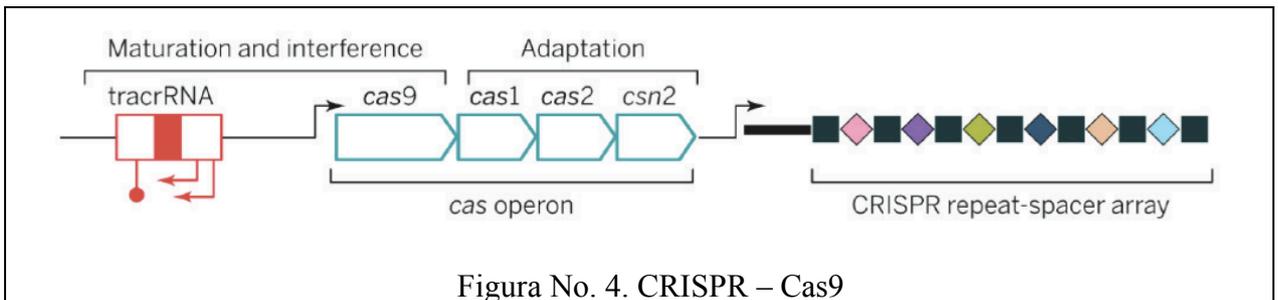
⁸ Una secuencia palindrómica, o palíndromo, es una secuencia de ácido nucleico (ADN o ARN) que puede leerse tanto de 5' (5-prima) a 3' (3-prima) en un filamento como de 3' a 5' en el filamento complementario, con el cual forma una doble hélice.

⁹ Para más información de estas técnicas ver Agapito-Tenfen (2015).

¹⁰ Un dominio de unión al ADN reconoce hebras de ADN dobles o simples. Pueden ser una secuencia específica de ADN (una secuencia de reconocimiento) o tener una afinidad general hacia el ADN. Un dominio proteico es la zona de la proteína donde se halla mayor densidad, donde hay más plegamientos.

¹¹ DICIT. (s/f).

- La región CRISPR, que está formada por secuencias repetidas intercaladas con pequeñas secuencias espaciadoras, de origen exógeno (llamadas secuencias poliandrómicas).



El proceso de edición genómica con CRISPR-Cas9 incluye dos pasos:

I) el ARN guía, complementario a la región del ADN que se quiere modificar y sintetizado previamente, se asocia con la enzima Cas9. Debido a las reglas de complementariedad de nucleótidos, el ARN hibrida con la secuencia de interés presente en el genoma, dirigiendo a la endonucleasa Cas9 a cortar el ADN en la región concreta.

II) se activan los mecanismos naturales de reparación del ADN fragmentado. Esta reparación resulta en algunos casos, en la aparición de mutaciones de inserción o deleción, que si están localizadas dentro de un gen pueden dar lugar a la pérdida de producción de la proteína que codifica. Así, una posible aplicación es la de inhabilitar genes.

Si se proporciona a la célula, una molécula de ADN que sirva como molde durante la reparación, a la que se ha modificado genéticamente, la célula lo copiará y el cambio quedará incorporado en el ADN. Es decir, que pueden introducir cambios específicos en posiciones concretas, lo que ha entusiasmado mucho a la industria biotecnológica.

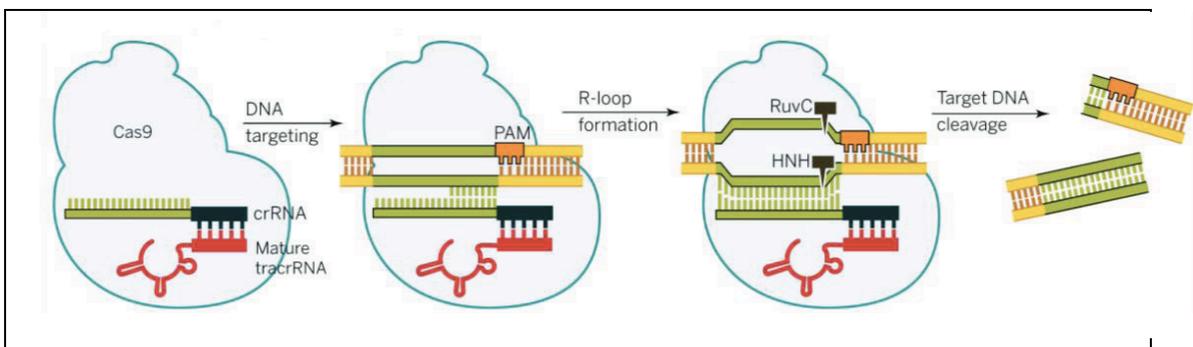


Figura 5. Etapas para la transformación génica usando la tecnología CRISPR-Cas9

La **etapa de adquisición** tiene como objetivo la captación e incorporación de fragmentos de DNA foráneo (ya sea ADN o ARN, plasmídico o vírico, (protoespaciadores cuando todavía se encuentran formando parte del genoma del ente invasor) al locus CRISPR de la célula hospedadora.

Dentro de CRISPR, estos protoespaciadores serán insertados entre las secuencias repetidas (pasando a denominarse espaciadores) y en posición 5´ respecto a la secuencia espaciadora y siempre tras la secuencia líder. Aquí intervienen las proteínas Cas1 y Cas2, que son las encargadas de escindir el protoespaciador del resto del material genético foráneo e incluirlo dentro del locus CRISPR.

En la **etapa de expresión**, CRISPR se transcribe, dando lugar a un largo transcrito primario denominado pre-crRNA, que contiene al locus tracrRNA y a todos los espaciadores adquiridos en la etapa anterior, separados por secuencias repetidoras. Este pre-crRNA es procesado mediante la endonucleasa RNAasa III, dando lugar a secuencias de ARN constituidas por una única región espaciadora flanqueada por una corta secuencia repetitiva, que servirá como zona de anclaje de Cas9 en la etapa posterior. Estas secuencias son denominadas crRNAs.

La **etapa de interferencia** tiene lugar cuando el genoma de un organismo foráneo reincidente intenta de nuevo infectar la célula. En esta etapa, el crRNA maduro se une mediante complementariedad de bases Watson-Crick a la secuencia activadora tracrRNA, formando un híbrido de RNA (tracrRNA:crRNA), necesario para dirigir a la endonucleasa Cas9 hacia la secuencia diana del material genómico invasivo que debe degradar. Mediante el apareamiento de bases del crRNA con la secuencia diana del ente infectivo (se formando el complejo cuaternario tracrRNA:crRNA:DNA), Cas9 logra la neutralización del agente invasivo mediante la generación de una DSB en la secuencia diana del mismo.

Para las aplicaciones biotecnológicas, se trabaja en el momento en que se debe reparar la doble cadena de ADN por la maquinaria celular. Estos patrones de reparación son aprovechados por los investigadores para generar modificaciones en lugares concretos del genoma con el que se esté trabajando.

Este sistema también puede ser utilizado para regular la expresión génica, o para introducir modificaciones epigenéticas, inactivando la actividad nucleasa de Cas9 e incorporándole un sistema que interaccione con elementos reguladores de la expresión génica o capaces de llevar a cabo cambios en metilación o modificaciones de las histonas.

Hay dos patrones principales de reparación, denominados NHEJ y HDR¹².

a) El mecanismo NHEJ de reparación de la doble cadena de ADN, es un sistema de reparación que deja “cicatrices” en el lugar en el que actúa. Estas mutaciones en forma de inserciones o deleciones de nucleótidos, si tienen lugar en el interior de zonas codificantes darán lugar a cambios en la pauta de lectura que pueden dar lugar a la aparición de codones de parada prematuros. Debido a esto, puede generarse el silenciamiento de genes o elementos genómicos.

b) El patrón de reparación HDR sólo tendrá lugar ante la presencia de una secuencia nucleotídica añadida de forma exógena y que por tanto podrá ser usada como herramienta de modificación más precisa. Es el propio investigador quien decide cuál será la secuencia que será introducida en el lugar de la escisión. Dicha secuencia deberá ser de doble cadena

¹² Esta sección se basa en Pardo Piñón (2017).

y homóloga a las regiones que rodean de la región del ADN cortada, donde vaya a incorporarse

Los desarrollos tecnológicos que permitieron esta tecnología son:

- Endonucleasas de restricción (W. Arber, H. O. Smith y D. Nathans, Premios Nobel 1978).
- Secuenciación del ADN (W. Gilbert y F. Sanger, Premios Nobel 1980).
- Moléculas de ADN recombinante (P. Berg, Premio Nobel 1980).
- Anticuerpos monoclonales (G. J. F. Köhler y C. Milstein, Premios Nobel 1984).
- Reacción en cadena de la polimerasa, PCR (K. B. Mullis, Premio Nobel 1993).
- Tecnología knock-out (que permite manipular el genoma del ratón para la creación de modelos animales de enfermedades humanas» (M. R. Capecchi, M. J. Evans y O. Smithies, Premios Nobel 2007).
- Proteína fluorescente verde, GFP (O. Shimomura, M. Chalfie y R. Y. Tsien. Premios Nobel 2008). (Lacadena, 2017).

Lo que está en disputa es la lucha por las patentes derivadas de CRISPR-Cas –como, por ejemplo, la disputa entre la Universidad de California en Berkeley donde Doudna y Charpentier hicieron su descubrimiento principal y el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) donde Zhang aplicó la técnica en mamíferos– y a la creación de compañías biotecnológicas para desarrollar las aplicaciones de la técnica CRISPR en medicina tales como Editas Medicine en EE.UU. (J.A. Doudna) y CRISPR Therapeutics en Suiza (E. Charpentier).

En este contexto también se puede recordar que el Premio Nobel Paul Berg, pionero de las moléculas de ADN recombinante, fue nombrado en una ocasión “empresario del año” en los Estados Unidos o la singular personalidad científico-empresarial de J. Craig Venter, el gran pionero de la genómica (proyecto genoma humano, genómica ambiental, metagenómica, genómica sintética) capaz de crear una nueva empresa para investigar y explotar cada uno de sus descubrimientos científicos. En contraposición, frente a estos ejemplos mencionados, habría que citar como caso contrario el del descubrimiento de la técnica de los anticuerpos monoclonales realizado por C. Milstein y G. J. F. Köhler (que les valió el Premio Nobel en 1984) que no fue patentada y ha resultado de gran valor para la investigación genética.

¿Cuáles son los fines de la aplicación de las nuevas tecnologías en la agricultura?

- Promover un tipo de agricultura empresarial que permita:
- Facilitar la acumulación de la tierra y del agua
- Asegurar el incremento en el uso de agrotóxicos, especialmente herbicidas
- Incrementar la mecanización en la producción agrícola
- Consolidar el rol del agronegocio en la producción agroalimentaria

Atrás de cada uno de estos objetivos hay empresas que se benefician

De acuerdo al grupo ETC, una de las principales áreas in investigación de estas nuevas tecnologías es revertir el desarrollado de tolerancia a los herbicidas, que es uno de los principales problemas generados por los cultivos transgénicos, y la agricultura industrial

en general. Si esto llegara a conseguirse, la industria consolidaría por un número de años más su poderoso sector de herbicidas.

Las tecnologías de edición genómica, especialmente CRISPR es presentada como una herramienta que permite operaciones moleculares de alta precisión, sin embargo, esto está lejos de ser verdad (Latham, 2016). Una investigación de un equipo de la Facultad de Salud de Harvard muestran que el sistema CRISPR pueden inducir mutaciones en mamíferos, en lugares que difieren hasta en cinco nucleótidos del sitio diana previsto; decir que CRISPR puede actuar en sitios desconocidos del genoma en donde no se quiere que actúe (Fu et al., 2014). El trabajo de este equipo de investigación muestra que las RGN pueden ser muy activas incluso con interfaces de ARN-ADN emparejadas de manera imperfecta en células humanas, un hallazgo que podría tener consecuencias en su uso en investigación y aplicaciones terapéuticas.

Hasta ahora no es técnicamente posible hacer ni un sólo cambio aislado en el genoma usando CRISPR y que sea totalmente precisos y seguro. Técnicamente, no hay ninguna garantía de que sea biológicamente posible obtener versiones más precisas de CRISPR.

En un estudio hecho en el Instituto Wellcome Sanger de Inglaterra se encontró que en Inglaterra que el CRISPR/Cas9 causa, a menudo, extensas mutaciones, puesto que muchas células editadas con CRISPR sufrieron reorganizaciones con "borrados" e "inserciones" no deseados de ADN, lo que puede provocar que algunos genes clave se "activen" o "desactiven".

"En mis primeros experimentos usé el CRISPR/Cas9 como herramienta para estudiar la actividad genética, sin embargo, se hizo evidente que algo inesperado estaba ocurriendo", dijo Michael Kosicki, uno de los autores del nuevo estudio publicado en la revista Nature.

"Este es el primer análisis sistemático de los efectos inesperados que provoca la edición con CRISPR/Cas9 en células relevantes desde el punto de vista terapéutico y descubrimos que los cambios sobre el ADN se han subestimando hasta ahora", explicó por su parte en un comunicado otro de los autores, Allan Bradley.

El científico español Lluís Montoliu, investigador científico del Centro Nacional de Biotecnología en Madrid, pionero en la utilización de esta tecnología, dijo a la BBC que el estudio de Bradley es uno de los pocos en el que "alguien se ha tomado la molestia de verificar todos y cada uno de los posibles resultados de un experimento de edición". Y la conclusión a la que llegan es que efectivamente la utilización de las herramientas CRISPR acaba generando en múltiples ocasiones modificaciones distintas a las deseadas, incorporando más "ruido genético, más alteraciones". Montoliu añade que esto "no es tan sorprendente" para quienes aplican CRISPR. "Lo sorprendente es que no se hayan realizado estudios tan pormenorizados de forma habitual" El problema principal de acuerdo a Montoliu es que "toda la precisión que tienen las herramientas de edición CRISPR no la tienen los sistemas de reparación que tienen que actuar a continuación para restaurar la continuidad física del cromosoma" (Martins, 2018).

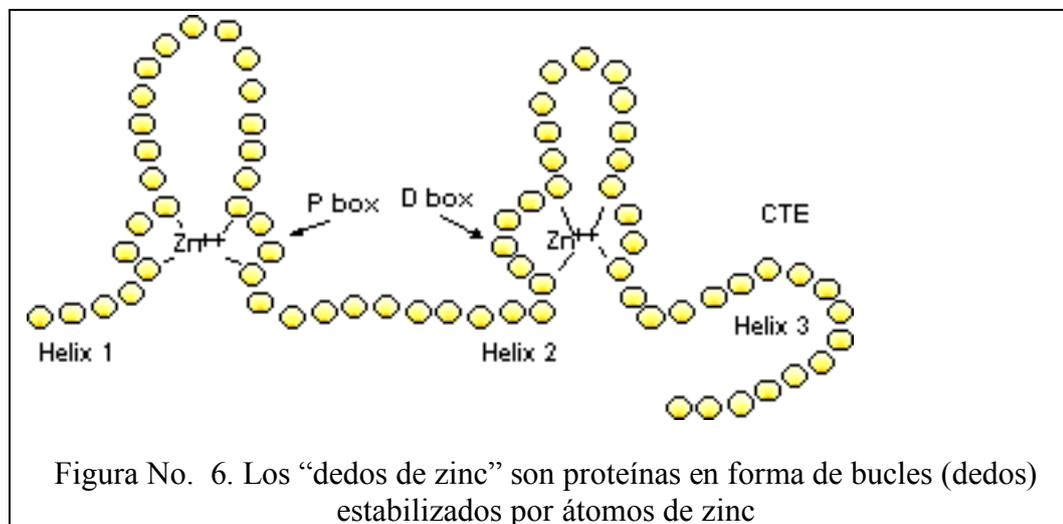
El concepto de edición precisa del genoma y que conduce a un resultado biológico definido, depende de la concepción de que los genes dan lugar a productos simples. Sin embargo, no existe una ruta definida, discreta o simple a través de la cual un gen da lugar a una proteína. La mayoría de funciones génicas están reguladas mediante redes

bioquímicas altamente complejas que dependen de un gran número de factores que las condicionan, como la presencia de otros genes y sus variantes, las condiciones del medio, la edad del organismo, el azar, etc. Ignorando estos hechos, los genetistas y biólogos moleculares han creado sistemas experimentales artificiales en los que las fuentes de variación ambientales o de otro tipo se ven minimizadas, para así no distraer del descubrimiento genético “realmente importante”.

2) Nucleasas de Dedos de Zinc (ZFN) de tipo -1, -2 y -3

Las técnicas que utilizan ZFN (por sus siglas en inglés) son técnicas de ingeniería genética que buscan realizar cambios deliberados en la composición genética y rasgos de un organismo. También se conocen como técnicas de edición génica.

El objetivo es modificar la secuencia del ADN para eliminar, sustituir o insertar secuencias de ADN en lugares predeterminados del genoma. En este aspecto, sus objetivos no son diferentes de los de cualquier otra técnica de ingeniería genética. En el caso de las técnicas “de edición”, esto puede significar la realización de pequeños cambios, de 1 a 10 nucleótidos¹³ (ZFN-1 y 2) o grandes inserciones de genes completos, incluyendo transgenes (como ocurre con la tecnología ZFN-3). Para esto es necesario “cortar” en primer lugar la molécula de ADN en un sitio específico.



Las ZFN son proteínas diseñadas específicamente y utilizadas con este propósito. El componente de “dedo de zinc” (ZF) puede reconocer una pequeña secuencia específica de ADN (de 9 a 12 bases), donde el componente nucleasa¹⁴ (N) realizará el corte. Hacen falta dos ZFN – las que se colocan diagonalmente en torno a la doble cadena de ADN - para cortar las dos hebras. Este corte del ADN pondrá en marcha uno de los dos mecanismos de reparación del ADN, para así volver a unir los dos extremos, con distintos posibles resultados.

¹³ Los nucleótidos son los bloques de construcción de ADN y ARN, que es el material genético también conocido como ácidos nucleicos. Hay 4 tipo de nucleótidos en el ADN: A, C, G y T (Adenina, Citosina, Guanina, Timina); y en ARN de A, C, G y U (adenina, citosina, guanina, uracilo). Es la secuencia de estas letras la que determinará qué proteína se está produciendo o qué instrucción se da.

¹⁴ Nuclease: enzima capaz de cortar el ADN.

Las nucleasas dedos de Zinc, estas son enzimas de restricción¹⁵, modificadas mediante la ingeniería de enzimas. Desde su descubrimiento hace casi 25 años, las enzimas de restricción tipo II han jugado un papel crucial en el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante y en el campo de la biología molecular. Estas son enzimas bacterianas relativamente simples que reconocen secuencias específicas en el ADN de doble hebra. Hasta la fecha, se han identificado más de 2.500 enzimas de restricción en una amplia diversidad de organismos.

Con base al conocimiento obtenido por estas enzimas, los investigadores las modificaron con dedos de zinc, para crear las endonucleasas dedos de zinc.

Las nucleasas de dedos de Zinc se componen de dos partes:

- 1) Los dedos de Zinc, que pueden manipularse de manera modular para dirigir su unión a una secuencia en particular
- 2) La nucleasa FokI, obtenida de la bacteria *Flavobacterium okeanokoites*, que ha sido modificada para generar un corte secuencia-independiente

Los dedos de Zinc, fusionados a la nucleasa FokI, trabajan juntos para unirse a secuencias específicas de 18 pares de bases, que los ingenieros genéticos consideran que son probabilísticamente únicas en el genoma

Nucleasas Koki

La enzima FokI es una endonucleasa de restricción, que se encuentra naturalmente en la bacteria *Flavobacterium okeanokoites* y consiste en un dominio de unión al ADN y un dominio de corte no específico. Una vez que la proteína se une a ADN dúplex a través de su dominio de unión en el sitio de reconocimiento, el dominio de corte de ADN se activa y corta de forma no específica entre nueve y trece nucleótidos hacia abajo del sitio de reconocimiento.

Existen tres categorías de Nucleasas Dedos de Zinc (ZFN):

a) ZFN-1: produce pequeños cambios aleatorios en un sitio específico del ADN, ya sean pequeñas deleciones¹⁶, sustituciones o inserciones de nucleótidos. En este caso, la célula “reparará” la rotura de forma aleatoria, utilizando un mecanismo de reparación llamado “NHEJ” (unión de extremos no homólogos).

b) ZFN-2: genera pequeños cambios en un sitio específico del ADN, como “mutaciones puntuales” (cambio de un nucleótido). En este caso, la reparación seguirá las instrucciones de un “molde” de ADN que se añade (una secuencia de ADN con la misma secuencia que el sitio diana excepto por una o dos pequeñas alteraciones o una inserción corta). En este caso el mecanismo de reparación utilizado se denomina “HR” (Recombinación Homóloga)

¹⁵ Una enzima de restricción o endonucleasa de restricción es aquella que puede reconocer una secuencia característica de nucleótidos dentro de una molécula de ADN y cortar el ADN en ese punto en concreto, llamado sitio o diana de restricción, o en un sitio no muy lejano a este

¹⁶ Son cambios en el ADN que implica pérdida de nucleótidos

c) **ZFN-3:** implica grandes inserciones de genes o secuencias reguladoras en un sitio específico. En el proceso de ingeniería genética se añadirá un molde de ADN, al igual que en ZFN-2, pero el molde contendrá además una secuencia larga de ADN (por ejemplo uno o más genes) para su integración.

El gen que da lugar a las ZFN diseñadas específicamente se introducen en la planta, generalmente mediante ingeniería genética (utilizando técnicas estándares de transformación), por lo que en esta etapa el organismo sería un transgénico. Una vez que las proteínas ZFN se han expresado y han hecho su trabajo, se seleccionarán las líneas vegetales que no contengan el transgén para la síntesis de ZFN. De forma alternativa, en un intento declarado de evitar ser designados como Organismos Genéticamente Modificados, se han desarrollado sistemas de expresión en virus vegetales, en los que se pretende que el gen ZFN permanezca dentro del sistema de expresión viral. La idea es que el transgén ZFN no se integre en el ADN de la planta - y por tanto no se transmita a las generaciones futuras.

Aplicaciones Comerciales de las ZFN-1, 2: La eliminación, cambio o inserción de un solo nucleótido (mutación puntual) puede bastar para modificar rasgos de la planta, como: tolerancia a herbicidas, esterilidad masculina o femenina, color de la flor, maduración retrasada del fruto.

Cambios imprevistos y riesgos.- Efectos fuera del sitio al que se quiere manipular: la tecnología ZFN es conocida por su unión no específica a ADN no-objetivo, lo que provoca un nivel significativo de mutaciones fuera del sitio diana en el genoma. Estas mutaciones pueden a) suponer cambios en la función de algunas proteínas, si se dan en secuencias codificantes, o b) si se dan en secuencias reguladoras, alterar la expresión génica, pudiendo producir el aumento de la presencia de toxinas vegetales, la ausencia de proteínas importantes para la nutrición, alteraciones en los sistemas de defensa vegetal o en los de resistencia a enfermedades, etc.

El ADN molde (en el caso de las ZFN-2 y 3) podría integrarse en lugares aleatorios del genoma, como hacen las inserciones transgénicas, ya sea de forma completa o parcial, alterando genes y secuencias reguladoras o, potencialmente, alterando proteínas. Esto podría conducir a una disminución del rendimiento, mayor susceptibilidad ante las plagas, acumulación de toxinas y residuos, aumento de la alergenicidad, etc.

Se pueden producir procesos de transformación y transfección¹⁷, así como el cultivo celular¹⁸ que se utilizan para la producción de plantas modificadas genéticamente mediante ZFN. Se sabe que estos procesos provocan mutaciones adicionales (con riesgos como los descritos anteriormente).

¹⁷ La transformación de las células vegetales es el proceso mediante el que se introduce el ADN externo en la célula y este se incorpora en el ADN de la planta. El término transfección de plantas es más común cuando se utilizan virus en el proceso o cuando no se pretende que el ADN externo se integre.

¹⁸ El cultivo celular es la utilización de medios de crecimiento para el cultivo de células vegetales fuera de la planta. Mediante la utilización de nutrientes, compuestos especiales, enzimas y varias hormonas de crecimiento, las células pueden 1) alcanzar el estadio correcto para su transformación (inserción de la nueva secuencia génica) y 2) ser inducidas a formar de nuevo una planta completa. Se sabe que el cultivo celular - especialmente el tipo utilizado para la transformación de plantas - provoca mutaciones en todo el genoma.

Las tres técnicas de ZFN son técnicas de ingeniería genética, cuyo objetivo es la realización de cambios deliberados a la composición genética y rasgos de un organismo. Las tres son propensas a ocasionar mutaciones en sitios no-diana debido a la actividad ZFN y al proceso de ingeniería genética (que por sí solo ocasiona cientos de mutaciones con los consiguientes efectos imprevistos). Además, en la actualidad no se comprenden completamente los mecanismos de reparación genética en la planta, lo que genera incertidumbres adicionales. Debido a este proceso, las modificaciones y los riesgos, los organismos obtenidos mediante ZFN son organismos genéticamente modificados, por lo que en el caso del Ecuador, estarían prohibidos constitucionalmente.

Nucleasas tipo activadores de transcripción (TALEN)¹⁹

TALEN son endonucleasas artificiales, son similares a los ZFN, ya que tienen un dominio de unión al ADN, derivado de las proteínas TALEN fusionadas al dominio de escisión FokI. Las proteínas TALEN son factores de transcripción obtenidas de un patógeno bacteriano de la planta *Xanthomonas*. Las bacterias producen estas proteínas para controlar la expresión de promotores de genes en la planta, imitando los factores de transcripción del huésped y así lograr una infección exitosa.

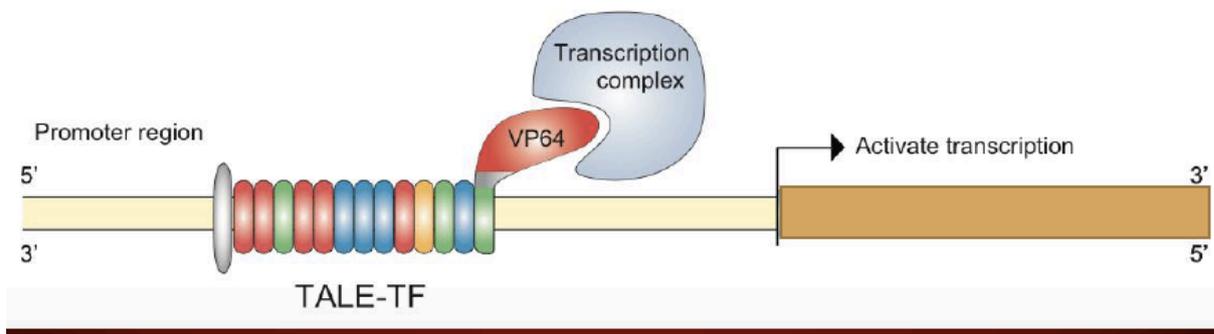


Figura No. 7. TALEN

TALE pueden diseñarse, artificialmente, a fin de unirse a una secuencia de ADN escogida, lo que permite cortarlo en las ubicaciones deseadas. El proceso consiste en la fusión del dominio de unión a DNA de un efector tipo TAL, unido a un dominio cortador del DNA (una nucleasa que corta hebras de ADN).

Los efectores TAL —TALEs— pueden ser diseñados. Las enzimas de restricción pueden ser introducidas a células, para su uso en edición genómica o la edición del genoma *in situ*. A través de la ingeniería de TALEs, se puede generar secuencias personalizadas de TALEs para reconocer secuencias genómicas únicas. A la secuencia de TALEs personalizada se puede fusionar la nucleasa FokI para generar el dímero funcional de corte

Las mismas consideraciones que llevan a clasificar las técnicas de ZFN como productoras de organismos genéticamente modificados, son a su vez aplicables a estas técnicas de edición génica, porque buscan cambios deliberados de la composición génica y rasgos de

¹⁹ La sigla TALEN responde a su nombre en inglés: Transcription activator-like effector nucleases

un organismo; son técnicas de laboratorio y son propensas a la aparición de efectos en sitios no-diana, así como efectos imprevistos del proceso de ingeniería genética.

OTRAS NUEVAS TECNOLOGÍAS MOLECULARES PARA EL CONTROL DE LAS PLANTAS

Mutagénesis dirigida por oligonucleótidos (ODM)

La mutagénesis dirigida por oligonucleótidos (ODM, por sus siglas en inglés) es una técnica de biología molecular utilizada para crear mutaciones puntuales en la cadena de ADN. Utiliza secuencias de oligonucleótidos (25-200 nucleótidos o pares de bases (pb) de longitud) o polinucleótidos (con más de 200 nucleótidos o pares de bases de longitud) para inducir mutaciones, o modificaciones específicas de secuencia de genómica endógena (Agapito-Tenfen y Wikmark 2015). El oligo / polinucleótido generalmente lleva un número limitado de modificaciones (entre 1 y 5) dentro de un segmento de ADN, que de otro modo sería homólogo a las secuencias diana (Sargent et al, 2011). Lo más importante es que esta estrategia no usa virus como vectores; tampoco tiene como objetivo agregar material genético al gen objetivo (Liu et al, 2003) a menos que, de lo contrario, combine con otros genoma. Esto crea una no-coincidencia en la secuencia, cuando el oligonucleótido se une al gen diana, lo cual induce un cambio del ADN (mutación) en un sitio específico una vez que se pone en marcha el propio mecanismo de reparación de ADN de la célula, provocando que se conserve la secuencia del oligonucleótido en lugar de la secuencia original.

El objetivo de estas tecnologías es crear cambios pequeños y predefinidos en sitios muy específicos de los genes, ya sea para cambiar la función del gen, o para parar su producción.

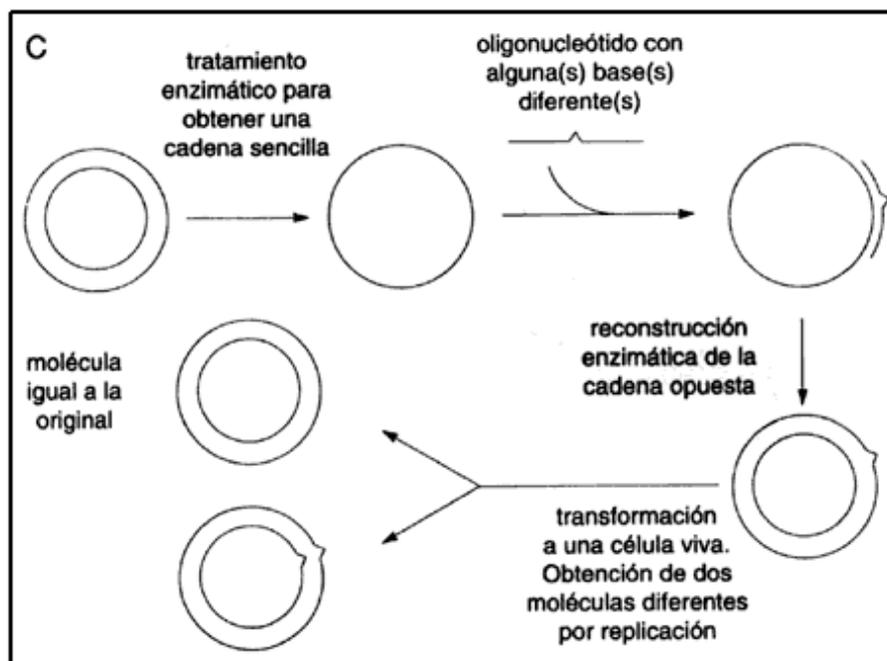


Figura 8. Mutagénesis dirigida por oligonucleótidos

Esta tecnología puede generar efectos en sitios no-diana, pues el oligonucleótido puede unirse a otros sitios del ADN con los que tenga una coincidencia suficiente, donde es probable que produzca mutaciones imprevistas. Esto puede ocasionar a su vez cambios o pérdida de función de las proteínas, o cambios en la expresión génica, lo que conduce a problemas como el aumento de la presencia de toxinas vegetales.

El oligonucleótido puede integrarse también en el ADN vegetal, de forma similar a las inserciones transgénicas, alterando genes y secuencias reguladoras o, potencialmente, dando lugar a proteínas alteradas.

Se han observado mutaciones en organismos modificados genéticamente a través de tecnologías ODM, cerca del sitio diana. Dependiendo del oligonucleótido utilizado, existe el riesgo de que los oligonucleótidos interfieran con la regulación o expresión génica de la célula, mediante la activación de mecanismos de ARNi²⁰, que pueden conducir al silenciamiento de genes. Esto puede dar lugar a cambios heredables, que pueden mantenerse durante varias generaciones, dependiendo de varios factores que aún no se comprenden por completo. Es más probable que esto ocurra en oligonucleótidos que contengan nucleótidos de ARN.

INJERTO SOBRE UN PATRÓN TRANSGÉNICO

El injerto es una técnica muy usada en agricultura desde la antigüedad, especialmente para árboles frutales, viñas, tomates²¹, y se usa para propagar especies que no pueden producir semillas bajo determinadas condiciones ambientales. Esta técnica permite al agricultor introducir en una variedad, rasgos de interés procedente de otro organismo, sin tener que cruzarlos. Se introducen por ejemplo un patrón con resistencia a una enfermedad o yema con un determinado sabor del fruto. Aunque se trata de un organismo compuesto por células genéticamente distintas), el injerto y el patrón en sí mismos mantienen sus identidades genéticas propias en lo que se refiere a la secuencia básica de su ADN.

Usando el mismo principio de los injertos, los biotecnológicos utilizan un patrón modificado genéticamente para obtener injertos que tengan las características conferidas por la ingeniería genética.

²⁰ La ruta del ARN de interferencia (ARNi) es un proceso interno de la célula mediante el que moléculas de ARN de varias formas pueden, a través de un número de pasos, conducir al silenciamiento de genes.

²¹ El injerto es una técnica habitualmente utilizada en plantas leñosas desde hace más de 2000 años, que se utiliza habitualmente en árboles frutales, rosales y viñas. El injerto de vegetales es más reciente y se utiliza fundamentalmente en tomates y sandía, pero también en pepino y berenjena.

Ilustración simplificada del injerto

Una porción no transgénica con fruto se ha injertado en un rizoma GM

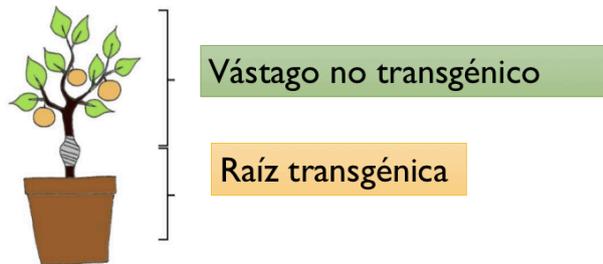


Figura No. 10

Aunque en el sentido estricto el tejido del injerto no es transgénico (pero el patrón sí), muchas de las moléculas producidas por el patrón modificado genéticamente, ya sea que se trata de proteínas, ciertos tipos de ARN (por ejemplo, ARN de doble cadena), hormonas o moléculas de señalización o defensa, podrían difundirse por la planta quimérica en su conjunto a través del floema²².

Como todo proceso de ingeniería genética, la transformación genética y el cultivo celular asociado inducen mutaciones en todo el genoma, así como en el sitio de inserción, lo que puede conducir a la aparición de rasgos imprevistos o a la alteración de rasgos existentes, con posibles impactos negativos para el suelo y el medio ambiente. Los efectos posicionales de los genes introducidos, que afecten a la expresión de genes vecinos) pueden a su vez provocar impactos negativos provistos.

Los compuestos y metabolitos producidos por el patrón modificado genéticamente estarán presentes en el injerto y sus productos (por ejemplo, en el fruto) alterando su composición, su composición nutricional, su alergenicidad o en la producción de toxinas.

Si se utilizan técnicas basadas en ARNi (ARN de interferencia) en el patrón modificado genéticamente, podría transferirse el silenciamiento génico activo del ADN del patrón podría transferirse al ADN del injerto, mediante el movimiento de pequeñas moléculas de ADN de uno a otro. Esto podría silenciar genes del injerto y alterar sus rasgos, y vice versa.

Mejora inversa

En la mejora inversa se emplea una etapa de modificación genética para suprimir la recombinación genética²³.

²² El floema es un tipo de tejido vascular que transporta agua, alimento y nutrientes (savia) hacia arriba y hacia abajo (en ambas direcciones) de la planta.

²³ La meiosis es el proceso de división celular de las células reproductoras (masculinas o femeninas), cada una contiene la mitad de los cromosomas (en comparación con las células vegetales ordinarias que tienen dos conjuntos de cromosomas uno de cada progenitor). Durante la meiosis se produce la recombinación, el

Esta es una tecnología de ingeniería genética que permite reconstituir líneas parentales uniformes y puras (homocigóticas) a partir de un híbrido existente, cuyas líneas parentales ya no están disponibles o no existen. El principal obstáculo para conseguir esto es que, cada vez que se producen gametos (células reproductoras) los cromosomas previamente adquiridos de las líneas parentales intercambian información, durante la fase de recombinación genética mezclando por tanto su ADN.

Para evitar la recombinación, la semilla híbrida seleccionada se modifica genéticamente para evitar la recombinación genética (mediante ARNi).

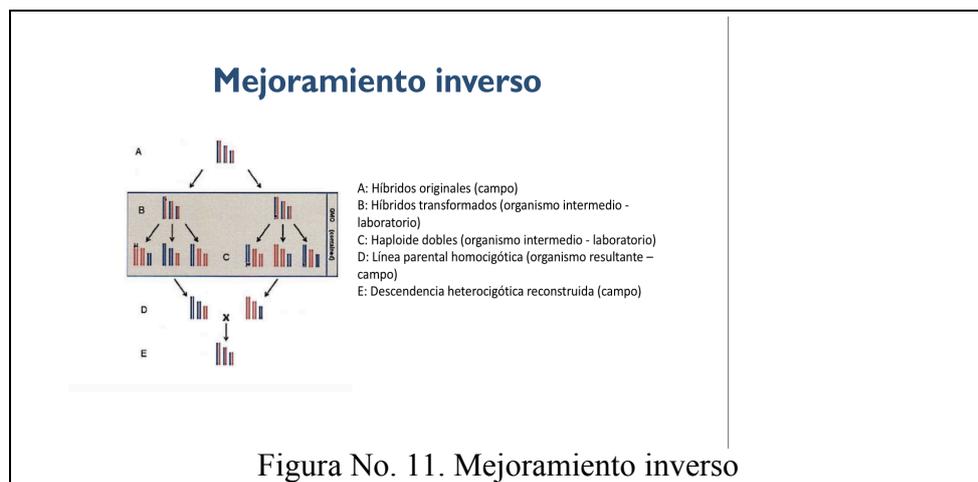


Figura No. 11. Mejoramiento inverso

Con ayuda del cultivo celular, los gametos individuales resultantes se utilizan para reconstituir plantas con dos juegos de los mismos cromosomas (denominadas "dobles haploides"). En una etapa más tardía se deselecciona el transgén y se seleccionan líneas parentales que, combinadas, darán lugar al híbrido deseado.

Dado que se utilizan los mismos procesos de ingeniería genética, tanto para insertar como para reconstituir plantas mediante el cultivo celular, existe el mismo potencial para la aparición de resultados imprevistos que con otros métodos. Por lo general, habrá mutaciones en el sitio de inserción y por todo el genoma (deleciones, reordenaciones, multiplicaciones) a raíz de los procesos de transformación, incluyendo el cultivo celular, con consecuencias impredecibles que podrían provocar alteraciones en el rendimiento y susceptibilidad a enfermedades, acumulación de toxinas, aumento de la producción de alérgenos, cambios en la composición nutricional, etc. La gran mayoría de estas mutaciones seguirían presentes en las líneas parentales reconstituidas, aunque el transgén en sí se deseccione y, con él, las mutaciones más directamente relacionadas con el sitio de inserción en sí.

El método de silenciamiento génico mediante ARNi podría provocar el silenciamiento de genes en sitios no deseado, efectos que se mantendrán durante varias generaciones. Por tanto deben realizarse análisis que evalúen el rendimiento y la composición de estos organismos, además de evaluaciones de riesgos completas. Estas evaluaciones deberán tener lugar antes del cultivo inicial, pero también durante varias generaciones, una vez

intercambio de segmentos de ADN entre las dos células reproductoras. Esto hace que los descendientes dispongan de una combinación genética que resulta distinta a la de sus padres.

que se haya eliminando el silenciamiento génico previsto y los imprevistos, y debería incluir ensayos de alimentación.

Además, podrían haberse integrado componentes funcionales o secuencias completas del transgén en otros lugares, además de la inserción primaria. Estos podrían, por tanto, no ser eliminados durante el proceso de selección, lo que haría que pudieran seguir originando el silenciamiento génico de la región diana y de otras regiones no diana.

Agro-infiltración

El objetivo de estas tecnologías no es crear un nuevo transgénico de manera estable y se integre en el genoma de la planta, sino que estos genes estén presentes en la planta de forma temporal, durante un máximo de una generación. Los transgenes se expresarán en un órgano específico de la planta, por ejemplo, en las hojas.

Para esto, se introducen en tejidos específicos de la planta genes de proteínas concretas o de ARNi a través de un plásmido²⁴ de *Agrobacterium tumefaciens*.

Esta técnica se usa con fines experimentales, para evaluar posibles transgenes; estudiar la función de los propios genes de la planta (mediante silenciamiento génico vía ARNi); expresar y producir proteínas vegetales de alto valor (como fármacos); producir plantas, semillas o híbridos con rasgos alterados mediante la manipulación de la epigenética (RdDM).

Hay dos tipos de agro-infiltración. La intención de la *agro-infección* es que el transgén se disperse por toda la planta, hacia casi todos los tejidos, sin que se integre en el ADN vegetal.

Con la *agro-infiltración "sensu stricto"* se pretende que la expresión génica y el efecto del gen se mantengan localizados; aun así, el constructo génico puede dispersarse por la planta, debido a las secuencias de *Agrobacterium* o virales utilizadas.

Aunque se supone que serán temporales, el material genético puede integrarse en el ADN vegetal, incluyendo los tejidos reproductores, dando lugar de forma no intencionada a transgénicos que pueden transmitir la modificación genética a su descendencia.

MANIPULACIÓN EMPRESARIAL DE LA EPIGENÉTICA

Metilación de ADN dependiente de ARN (RdDM)

La metilación de ADN dirigida por ARN (RdDM) es un proceso en el que las moléculas de ARN induce que se añadan grupos metilo (grupos -CH₃)²⁵ en ciertos nucleótidos en determinada secuencia de ADN, para así silenciar un gen²⁶.

²⁴ Un plásmido es un anillo circular de ADN presente en células bacterianas, que puede replicarse independientemente de los cromosomas y puede transmitirse a otras bacterias. En ingeniería genética se usa los plásmidos como medio de transporte (o vectores) de los transgenes.

²⁵ Un grupo metilo (grupo -CH₃) está formado por un Carbono unido a tres átomos de Hidrógeno.

²⁶ En el caso de plantas y animales, sólo puede metilarse uno de los cuatro nucleótidos del ADN, la citosina. En bacterias también puede metilarse la adenosina.

La RdDM es una forma de ARN de interferencia (ARNi) dentro de la célula, usado para silenciar un gen específico, de forma que este no dé lugar a ningún producto génico. A través de este mecanismo se pueden tener rasgos de interés, como un retraso en la maduración del fruto, flores de un color diferente, aumento del contenido de una determinada sustancia o de un nutriente específico, esterilidad masculina...

La metilación en la región promotora de un gen, hace que el gen no se exprese. Aunque este silenciamiento no es una alteración permanente, se hereda durante varias generaciones. Se cree que en plantas llega un momento en el que se pierde, pero esto no ocurre en todos los organismos, por ejemplo en el nematodo *C. elegans*. En cualquier caso, no se sabe ni se comprende qué es lo que desencadena esta reversión de la metilación.

Las rutas de silenciamiento se dividen en²⁷:

Una ruta que tiene lugar en el citoplasma. El silenciamiento génico mediado por RNAi, es un proceso que permite promover la degradación del ARN mensajero, mediante la complementariedad entre éste, y una molécula de ARN de interferencia (ARNi). Este proceso se llama “silenciamiento génico postranscripcional” (PTGS por sus siglas en inglés).

El ARN de interferencia es un mecanismo de silenciamiento post-transcripcional de genes específicos, de modo que pequeñas moléculas de ARN complementarias a un ARNm conducen a la degradación de éste, impidiendo así su traducción en proteínas.

El silenciamiento génico por ARN de interferencia es inducido por pequeñas moléculas de ARN de doble cadena de 21 a 27 nucleótidos denominadas ARNsi (por sus siglas en inglés, small interfering RNA, “ARNsi”).

Estos siRNA sufren una serie de procesos en la célula como consecuencia de los cuales su ARN de doble cadena se desdobra en una hebra sentido y una hebra antisentido. La hebra antisentido se une a la cadena de ARNm de manera específica por complementariedad de bases, provocando que el complejo resultante sea reconocido por los mecanismos celulares y degradado.

Cada ARNsi es altamente específico para la secuencia de nucleótidos diana al que degrado

Si bien el fenómeno de interferencia génica se produce de forma natural en el organismo, como defensa a las infecciones de virus, ahora se fabrican de manera artificial ARNsi con el fin de introducirlos en organismos vivos, para silenciar un gen específico. Cualquier gen cuya su secuencia génica sea conocida puede servir de diana para un ARNsi diseñado a medida, con la secuencia complementaria a la de dicho gen.

Una ruta que tiene lugar en el núcleo, guiada por ARN pequeños que inducen en secuencias específicas modificaciones epigenéticas como la metilación del DNA. La metilación del ADN dirigida por ARN (RdDM) es una técnica que emplea la inserción de genes que codifican los ARN que son homólogas a las regiones promotoras del gen diana. La transcripción del gen insertado lleva a duplicar los ARN de cadena que se cortan posteriormente en pequeños RNA, los que inducen la metilación de la región promotora del gen diana, con el resultado de que el gen objetivo se silenció. Es conocida como “silenciamiento génico transcripcional” (TGS).

A nivel transcripcional, el ARN de interferencia promueve un complejo proceso de metilación de ADN (Negrete, 2014), el cual conduce a una transformación de la eucromatina en heterocromatina en una posición fija del cromosoma (locus). A nivel post-transcripcional, el fenómeno de silenciamiento se origina mediante la intervención de una molécula de RNAi. El complejo de silenciamiento ARN-inducido (RISC) resultante permite la vinculación al ARN

mensajero (mRNA) diana. En plantas, las secuencias RNAi reguladoras en posición están involucradas en mecanismos de defensa contra organismos antagonistas, e intervienen en la expresión de genes relacionados con su crecimiento. De igual manera, algunas respuestas adaptativas a estrés se regulan por el miRNA.

Cómo funciona.- La metilación es inducida por un ARN de doble cadena, cuya secuencia coincide con una secuencia de ADN, silenciando por tanto el gen asociado. Hay distintas formas de introducir secuencias específicas de ARN de doble cadena en una célula, por ejemplo:

- a. modificar genéticamente la planta, introduciendo un gen que dé lugar a un ARN de este tipo (con una secuencia "invertida") - para un silenciamiento génico permanente o temporal.
- b. si lo que se quiere es un silenciamiento génico temporal, por ejemplo, durante unas cuantas generaciones, puede eliminarse (de-seleccionarse) el gen insertado mediante cruzamientos durante el proceso de mejora.
- c. infectando las plantas con virus vegetales modificados genéticamente (que contengan la secuencia promotora diana), lo que conduce a la metilación y silenciamiento del gen diana. (Silenciamiento Génico Inducido por Virus (VIGS) - RdDM)
- c. pulverizando a la planta con ARNdc (ARN de doble cadena)

Cambios imprevistos y riesgos.- Efectos en sitios diferentes a los que se quiere silenciar, lo que puede provocar el silenciamiento de otros genes, produciéndose rasgos alterados, con posibles impactos negativos como la producción y acumulación de toxinas y alérgenos, disminución del contenido nutricional, susceptibilidad a enfermedades.

El silenciamiento del gen diana puede no sólo detener la síntesis del producto génico (una proteína), sino que dependiendo de la posible función de esta proteína en otras rutas metabólicas, se pueden producir otros efectos imprevistos (conocidos generalmente como efectos pleiotrópicos). Las consecuencias podrían afectar a cualquier elemento relacionado con estas rutas metabólicas, por ejemplo factores de crecimiento, mecanismos de defensa y señalización, acumulación de compuestos, etc.

Específico del ARNdc: Dependiendo de la metodología utilizada, la presencia de moléculas de ARNdc en la cadena alimentaria y el medio ambiente podría provocar efectos adversos sobre otros organismos expuestos mediante la ingestión o el contacto, por ejemplo en el caso de las pulverizaciones.

El ARNdc pueden transmitirse a través de la cadena trófica, y amplificarse y conducir a la inactivación de genes vitales, lo que podría tener importantes consecuencias ecológicas y sanitarias.

Este es el resultado previsto, por ejemplo, de los ARNdc insecticidas producidos por plantas modificadas genéticamente. Esto supone una dimensión de riesgo nueva y muy grave en comparación con los transgénicos producidos hasta la fecha.

La tecnología RdDM es muy nueva y poco estudiada, con posibles impactos perjudiciales graves para la naturaleza, el ambiente y los seres humanos.

Conclusiones

Se ha presentado aquí una revisión de diferentes nuevas tecnologías moleculares que tiene la intención de manipular la expresión genética de las plantas, con el fin de obtener productos de interés para la industria agroalimentaria, farmacéutica y otras.

Utilizando varios de los descubrimientos sobre las leyes que rigen sobre los seres vivos, se crean herramientas para el beneficio de la industria, llamando nuestra atención a la dirección que está tomando la investigación científica en nuestros días. Tenemos una ciencia altamente financiada por el sector empresarial, y que por lo mismo debe adaptarse a su agenda comercial, y una ciencia independiente con presupuestos muy bajos que en gran parte se centra en identificar los impactos reales o potenciales de estas nuevas tecnologías, posponiendo prioridades más urgentes de investigación.

Lo que queda claro es que este nuevo conjunto de herramientas moleculares, inseguras, imprecisas constituyen una clara violación a los derechos de la naturaleza; en este caso, porque vulneran sus derechos desde su misma base, como es la expresión génica y toda la maquinaria que hace posible que la vida en el planeta continúe reproduciéndose y generando biodiversidad.

CAPÍTULO TRES

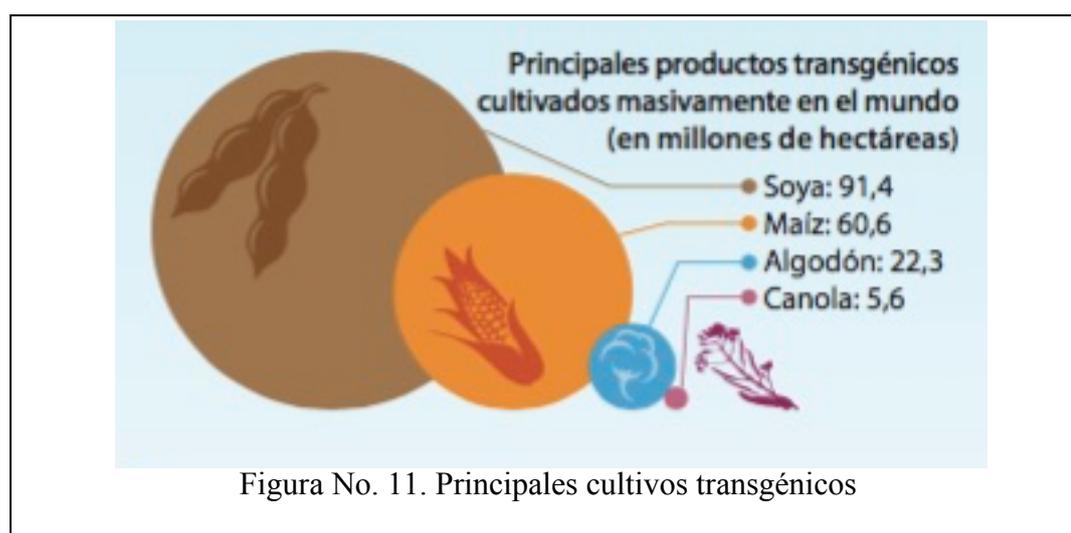
LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

Introducción

En esta sección se va a analizar cómo los cultivos transgénicos a la luz de los derechos de la naturaleza.

Después de más de dos décadas desde que se inició la comercialización masiva de semillas transgénicas, se han logrado posicionar sólo dos tipos de caracteres que se comercializan: aquellos con resistencia a insectos (por la presencia de las toxinas Bt) y los que tienen tolerancia a herbicidas, especialmente al glifosato. Hay además una nueva generación de cultivos a los que se les ha insertado tantos genes de resistencia a herbicidas y a insectos²⁸. Dado que la ganancia de las empresas está principalmente en la venta del herbicida, al momento casi todas las nuevas semillas transgénicas tienen genes apilados²⁹, pero básicamente en ningún caso se apartan del patrón herbicida/insecticida.

Datos de fines del 2017 (ISAAA, 2018) muestran que en el mundo había 185,1 millones de hectáreas con cultivos transgénicos, de los cuales el 50% era de soya (la gran mayoría resistente a glifosato u otros herbicidas), el 33% de maíz, el 12% de algodón, el 5% de canola, y en menor grado; otros cultivos como alfalfa, papaya y remolacha azucarera. La gran mayoría de estos alimentos (con excepción de la papaya), no están destinados al consumo humano directo, y requieren de su industrialización, lo que implica un mayor impacto en la naturaleza, y un menor control tanto de los campesinos y campesinas, como de los consumidores.



Por eso la ingeniería genética no ha podido cumplir sus promesas, pues decían sus defensores que iba a solucionar los problemas de hambre, desnutrición, iba a incrementar la productividad agrícola, iba a producir plantas resistentes a las heladas, a la salinidad, a las sequías

²⁸ Conocidos como transgénicos con genes apilados

²⁹ Ver por ejemplo los datos presentados en el último informe sobre concentración corporativa del Grupo ETC.

... todo esto no ha sido más que promesas.

Los cultivos resistentes a herbicidas

Los cultivos transgénicos con resistencia a un herbicida forman parte de un paquete tecnológico que está formado por:

- semillas transgénicas
- aspersiones aéreas con el herbicida
- agricultura de precisión
- siembra directa

Están diseñados para ser usados con el herbicida, por eso, desde que se adoptaron masivamente los cultivos transgénicos, se ha disparado el uso del glifosato. Haciendo una comparación entre los distintos cultivos, Benbrook (2016) reportó que a nivel mundial, el uso de glifosato se ha multiplicado por 15 veces desde los cultivos con resistencia a glifosato salieron al mercado en 1996. Entre 1974 hasta 2014, en tan solo los últimos 10 años, se aplicaron dos tercios del volumen total de glifosato aplicado en Estados Unidos. La cuota correspondiente a nivel mundial es del 72%. En 2014, los agricultores rociaron suficiente glifosato para aplicar ~ 1.0 kg / ha (0,8 libras / acre) en cada hectárea de tierras de cultivo cultivadas en Estados Unidos, y casi 0,53 kg / ha (0,47 libras / acre) en todas las tierras de cultivo en todo el mundo.

Con 1.000 millones de toneladas por año, Brasil (el segundo productor mundial de transgénicos) es el Estado del mundo que emplea más pesticidas en su agricultura, superando a Estados Unidos. Según la Asociación Brasileña de Salud Colectiva (Abrasco), el 70% de los alimentos consumidos en este país tropical están contaminados por los agrotóxicos. Esto supone que cada brasileño consume anualmente una media de 7,3 litros de plaguicidas.

En Argentina, que es el tercer productor de transgénicos a nivel global, se vierte un promedio de aproximadamente 200 millones de toneladas de glifosato anualmente.

Esto significa también que las poblaciones que viven cerca de las plantaciones enfrenten graves problemas de salud ocasionados por el coctel de agrotóxicos, como ya se evidencia en Paraguay, Brasil, Argentina y Estados Unidos.

En una evaluación hecha en Argentina sobre la presencia de glifosato en el agua (Demonte et al, 2018), se encontró una alta presencia tanto de glifosato, como de su metabolito AMPA en aguas subterráneas (0,6-11,3 µg/L y 0,2-6,5 µg/L respectivamente). Una mayor incidencia de estos plaguicidas se encontró en tanques de reserva abierta (0,6-21,2 µg/L y 0,2-4,2 µg/L). El glufosinato es un herbicida de uso menos frecuente y solo se encontró en muestras de tanque de reservorio abierto, en el 52% de muestras, y se cuantificó en una muestra una concentración de 0,1 µg/L.

En esta inmensa área se vierte una gran cantidad de herbicidas no selectivos en preemergencia para el control de malezas y como agente de desecación antes de la cosecha, así como en otros usos no agrícolas también registrados. Esto ha hecho que se

encuentre residuos químicos a bajas concentraciones en alimentos, agua, suelos y otras muestras, exponiendo a humanos y ganado a riesgos toxicológicos a través de sus dietas.



Otra afectación a la agrobiodiversidad y los ecosistemas naturales, es que las plantas resistentes al glifosato tienen una descontrolada capacidad de propagación en el ambiente, de acuerdo a un estudio hecho en China, pues los genes insertados adicionalmente pueden mejorar el potencial para una propagación incontrolada al medio ambiente (Fan *et al*, 2018)³⁰.

Según la investigación de Fan y sus colegas, la enzima de EPSPS³¹ adicional interfiere con el metabolismo del crecimiento y fecundidad de las plantas: estas pueden producir más semillas y ser más resistente a estresores ambientales como la sequía y el calor. Ellos explican que esto podría deberse a una mayor producción de la hormona auxina en la planta transgénica. La auxina desempeña un papel clave en el crecimiento, la fecundidad y la adaptación al medio ambiente, bajo factores de estrés.

Cuando hay flujo de genes desde las plantas transgénicas hacia poblaciones naturales (contaminación transgénica), la descendencia tendrá una mayor capacidad de adaptación, y de propagar su ADN transgénico más efectivamente de lo que se suponía, lo que está asociado al transgén, y no de la aplicación de glifosato. Recordemos que China es el centro de origen de la soya, donde aún hay muchas variedades tradicionales.

LOS CULTIVOS BT

³⁰ El artículo de los investigadores chinos (en inglés) puede ser encontrado en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.00233/full>

³¹ Que es la responsable que las plantas sean resistentes al glifosato

Los cultivos transgénicos conocidos como Bt, están diseñados para expresar toxinas insecticidas producidas por una bacteria del suelo cuyo nombre científico es *Bacillus thuringiensis* (Bt).

Bacillus thuringiensis es una bacteria que produce una gran proteína que produce una amplia gama de toxinas insecticidas contra varios tipos de insectos. Las toxinas más usadas son las delta-endotoxinas llamadas "Cry", por formar cristales. Hay varios tipos de proteínas Cry que interactúa con receptores específicos en las células digestivas epiteliales de los insectos. El intestino se paraliza y el insecto deja de alimentarse.

Se trata entonces de plantas insecticidas. Los genes que expresan los insecticidas insertados en el cultivo (que puede ser maíz, soya o algodón) están destinados a matar las plagas que se alimentan de los cultivos.

De la misma manera que ocurre con otros insecticidas, los cultivos Bt (que son venenosos para los lepidópteros) pueden eliminar a otros insectos que no son plagas y que juegan un rol importante en las cadenas tróficas. Este es el caso de los polinizadores, como son las múltiples especies de abejas que cumplen este importante rol en la naturaleza, insectos dispersores de semillas e incluso insectos benéficos usados para el control natural de plagas.

Se ha encontrado que la mortalidad de las larvas de algunos insectos benéficos se ha incrementado cuando han sido alimentadas con plantas que poseen los genes de la toxina Bt. Esto puede producir un efecto "cascada", es decir, si algunas poblaciones de insectos disminuyen, también pueden disminuir las poblaciones de aves que se alimentan de esos insectos. Se afectarán además las plantas que son polinizadas por ellos, y las especies vegetales que dependen de las aves para dispersar sus semillas.

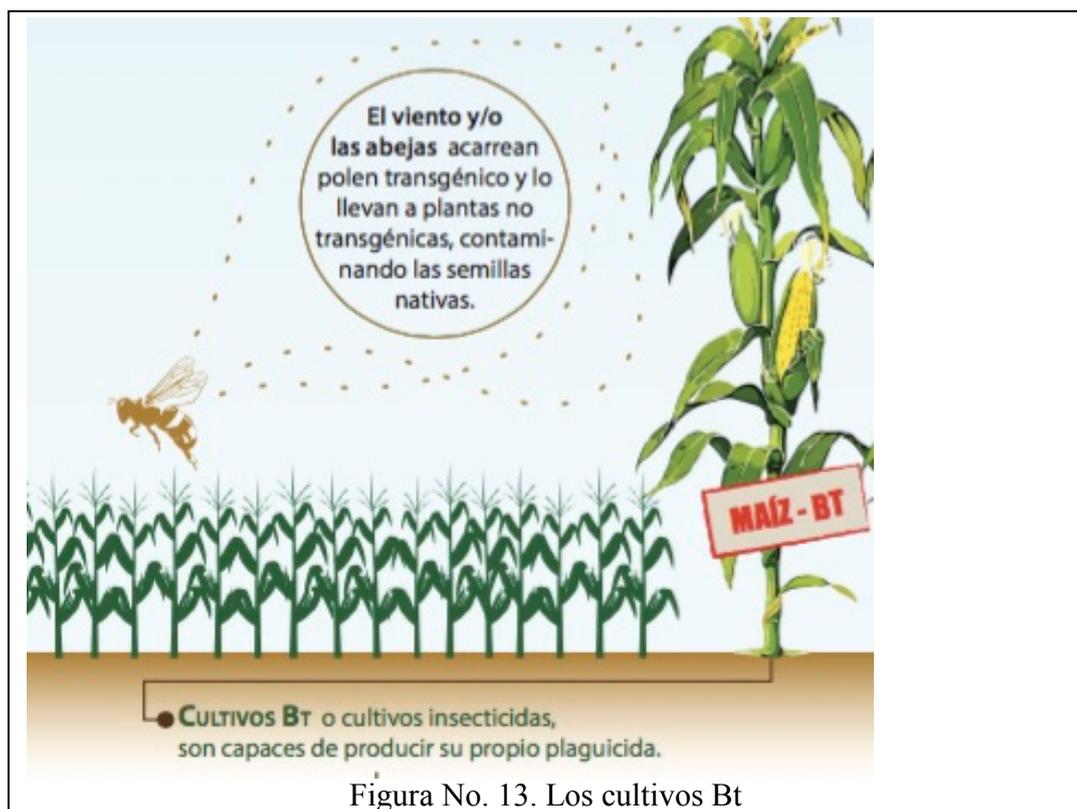


Figura No. 13. Los cultivos Bt

Pero las toxinas Bt no afectan sólo a insectos sino también a otros componentes de la fauna nativa. Un estudio realizado en la Universidad del Litoral – Argentina, se encontró que también hay afectaciones en renacuajos de ranas *L. Leptodactylus gracilis* cuando son expuestos a una dieta con base a soya Bt. Se encontró que esta dieta puede haber inducido cambios histopatológicos en el intestino de renacuajos y se encontraron además algunos efectos citotóxicos en los eritrocitos. Para ranas herbívoras, como es el caso de *L. gracilis*, se recomienda una dieta basada en soya no transgénica, como una dieta básica con buenos requerimientos nutricionales para los anfibios. Ellos citan un trabajo anterior suyo, en el que observaron que renacuajos expuestos durante 48 horas al insecticida comercial Bt que contienen toxinas *Cry* lesiones mostraron inflamatorias en el tejido conectivo subyacente al epitelio, histopatologías intestinales como lesiones y dilatación de vasos sanguíneos (Lajmanovich et al, 2015).

En su discusión sobre los resultados de su estudio, los autores hacen una revisión sobre los efectos de las toxinas Bt en otros animales. Fares y El-Sayed (1998) en su trabajo con ratones alimentados con papas transgénicas Bt.

Vázquez-Padrón *et al* (2000) encontraron histopatologías intestinales en ratones. Además, Ibrahim y Okasha (2016) concluyeron que el consumo de transgénico que contiene genes Bt altera la estructura histológica intestinal.

En organismos acuáticos, Tank *et al* (2010) demostraron la presencia de detritus de maíz y una proteína insecticida transgénica (Cry1Ab) dentro de la red de arroyos de un paisaje agrícola, mientras que Wang *et al.* (2013) demostraron que el arroz Bt libera cantidades detectables de proteína Bt en el agua de riego. Además, algunos estudios han indicado los efectos adversos de los cultivos Bt en organismos acuáticos, entre ellos larvas de *Trichoptera* (Rosi- Marshall et al., 2007) larvas de una mosca grulla y un isópodo (Jensen *et al.*, 2010) y peces. Los efectos significativos del maíz MON810 se han observado recientemente en peces salmónidos (*Salmo salar*). Además, los efectos no específicos de algunas plantas Bt (por ejemplo, *Populus spp.*) También se han reportado para la biota acuática (Axelsson et al., 2011).

En peces carnívoros (por ejemplo, *Salmo salar*), la harina de soya induce enteritis y otras alteraciones patológicas en el tracto digestivo (Urán *et al.* 2009).

Las toxinas Bt entran en las redes tróficas

Uno de los problemas más graves asociados al uso de algunos agrotóxicos (como el DDT) es que éstos pueden bioacumular en las cadenas tróficas, por lo que su uso es prohibido en varios países del mundo.

Un fenómeno parecido fue encontrado con los genes Bt, por un grupo científico de la Agencia Estatal de Investigaciones Fluviales del Canadá, quienes evaluaron si las proteínas transgénicas podían contaminar a los organismos vivos a través de las redes tróficas o cadena de alimentos, estudiando a presencia de los genes Bt en el molusco bivalvo de agua dulce *Elliptio complanata*, en seis puntos de ecosistemas cercanos a sembríos de maíz Bt.

Ellos encontraron altos niveles de contaminación en el molusco, con los genes Bt de maíz en las branquias, las glándulas digestivas y las gónadas.

Con el fin de explicar la presencia del transgén en el tejido animal, se recolectaron bacterias desde la superficie del agua hasta los sedimentos, y se las hizo crecer en agar. También encontraron la presencia del transgén en dos de los niveles de agua que fueron evaluados, y en los sedimentos. Concluyeron que la vía de ingreso de los transgenes fue la ingestión de bacterias contaminadas.

Este estudio nos revela que los transgenes Bt pueden ingresar en la cadena de alimentos de ecosistemas acuáticos y contaminar los diversos niveles tróficos (Douville *et al*, 2009).

Fracaso del modelo

Por otro lado, la eliminación de algunas plagas susceptibles a las toxinas Bt (especialmente lepidópteros), en un contexto de monocultivo, deja libre el nicho ecológico para que otros grupos de insectos se hagan abundantes como los insectos chupadores (o áfidos), lo que implica la aplicación de insecticidas sintéticos.

Hay varios estudios que han reportado el aumento de las poblaciones de herbívoros en el algodón Bt, aunque aún no se comprenden totalmente los mecanismos subyacentes. En uno de estos estudios (Hagenbucher *et al*, 2013) hecho por un grupo de investigadores de la Estación Experimental Agroscope Reckenholz-Tänikon – Suiza, sostiene que cuando un herbívoro se alimenta de una planta, se activa en la planta la producción de ciertos metabolitos secundarios (como los terpenos), que la protege del ataque de herbívoros.

Ellos proponen que, la ausencia de estos metabolitos secundarios defensivos, inducidos por herbívoros en el algodón Bt, favorecen a la proliferación de otros herbívoros que no son afectados por las toxinas Bt, como es el caso del pulgón del algodón (insensible a la proteína Bt), que prolifera bajo invernadero (Hagenbucher *et al*, 2013).

Las toxinas transgénicas Bt, que se expresan en plantas transgénicas Bt, son diferentes de los aerosoles naturales con toxinas Bt que han sido usados durante décadas por los agricultores orgánicos y convencionales en algunas regiones del mundo. En palabras del Monsanto, la mayor empresa biotecnológica del mundo (ahora comprada por Bayer), las toxinas transgénicas Bt introducidas en los cultivos modificados genéticamente, fueron especialmente diseñadas para sean “súper toxinas”, porque tienen una “actividad de amplio espectro”. Por el contrario, la toxina Bt natural, solo afecta a ciertas plagas de insectos y se degrada rápidamente con la luz del día, por lo que es poco probable que los consumidores estén expuestos a estas toxinas.

Pérdida de agrobiodiversidad

Hablar de la conservación de la agrobiodiversidad, incluye además la conservación del sistema agrícola. El algodón Bt es una planta insecticida. Las hojas, tallos y toda la planta son tóxicas para los insectos. Al igual que con los insecticidas, otros insectos pueden ser eliminados. Estos pueden ser insectos benéficos que comen plagas, o pueden ser abejas, insectos polinizadores o dispersores de semillas, así como otros insectos, importantes en

el equilibrio ecológico de los ecosistemas. Esto puede producir un efecto "cascada" afectando poblaciones de otros organismos que se alimentan de esos insectos.

Los transgénicos tienden a provocar pérdida de agrobiodiversidad, porque es un modelo que requiere de extensos territorios continuos con el mismo cultivo, especialmente en el caso cuando son resistentes a herbicidas, donde predomina la fumigación aérea. Cualquier otro tipo de agricultura no puede coexistir con estos cultivos, porque es eliminado por el veneno que llega del aire.

De manera particular, la agricultura transgénica y campesina no pueden coexistir. Los transgénicos son una pieza que encaja perfectamente en un modelo de agricultura, en la agricultura industrializada. Las semillas transgénicas con su paquete tecnológico incorporado no están diseñadas para apoyar la agricultura campesina, orgánica o ecológica, sino para hacer más eficaz la agricultura industrializada.

Por otro lado, con el uso de las semillas transgénicas, las variedades criollas pueden entrar en desuso, y generarse un acelerado proceso de erosión genética y pérdida de agrobiodiversidad. En países donde se ha adoptado por ejemplo el algodón transgénico (como Colombia y Paraguay), desaparece del mercado otro tipo de semillas, lo que obliga a los agricultores a sembrar exclusivamente algodón genéticamente modificado, con una gran pérdida de agrobiodiversidad.

Esto genera erosión genética, es decir pérdida en la variabilidad de los cultivos y empobrecimiento de la base genética de los cultivos, pero además significa pérdida de las prácticas tradicionales, de los sistemas productivos, de los hábitos alimenticios, de los ritos y costumbres asociados con las distintas variedades que se van perdiendo. Tradicionalmente, la agrobiodiversidad ha sido conservada por las comunidades campesinas que usan, mejoran, recrean y crean nuevas variedades, las adaptan a sus necesidades culturales y exigencias ambientales... todo esto se pierde con los cultivos transgénicos.

Contaminación genética

Los transgénicos pueden además provocar contaminación genética a variedades nativas y de la producción orgánica y agroecológica y a variedades convencionales. Hay diferentes elementos de la naturaleza que pueden trasladar físicamente semillas de las parcelas de cultivo a otras parcelas o a ecosistemas naturales cercanos a los cultivos: como insectos, aves, roedores y murciélagos, o agentes naturales como el viento e, incluso, el agua.

Otra fuente de contaminación es el polen, produciéndose **flujo de genes**. A través de este fenómeno se incorporan genes extraños en el pool genético de una población, a partir de una o varias poblaciones, eventualmente cambiando la estructura genética de las poblaciones naturales. Los transgenes fluyen a través de los procesos normales de reproducción, a través de la transferencia genética vertical. La dispersión de semillas y de polen son mecanismos importantes que provocan el flujo de genes entre poblaciones de plantas.

Los transgenes pueden también ser transferidas de un organismo a otro por procesos infecciosos, utilizando vectores microbianos, como los virus. Esto se llama transferencia

horizontal de genes. Los transgenes también se mueven cuando una planta tiene un transgén y se muda a un nuevo entorno, a través de semillas o propágulos.

Otras fuentes potenciales o caminos de contaminación transgénica puede ser una gestión de no segregación de elementos transgénicos y no transgénicos; la mezcla indeseada o persistencia inadvertida de componentes reproductivos de las plantas (semillas o elementos como tubérculos, según la especie), en cualquier lugar donde puede germinar o desarrollarse, o de cualquier otro componente de la planta que puede ser empleado como alimento. Puede haber contaminación a partir de máquinas cosechadoras, camiones y contenedores empleados en el traslado y almacenamiento de semillas y cosechas, y otra maquinaria de la cadena agroalimentaria.

Existe un peligro particular para los países que son centro de origen y diversificación de cultivos: que se produzca contaminación genética desde los cultivos transgénicos a sus variedades tradicionales y parientes silvestres. En el caso de América Latina un cultivo muy importante en ese sentido es el maíz. Ya se ha reportado contaminación transgénica de maíz en México, Perú, Chile, Brasil y Uruguay.

En Brasil, los campesinos del Movimiento de Pequeños Agricultores se quejan de que es muy difícil encontrar semillas no transgénicas de maíz, lo que les genera un problema, pues no pueden entrar en programas públicos de abastecimiento de semillas porque no pueden probar la pureza genética de sus semillas³².

Otro cultivo vulnerable es el algodón. La introducción de algodón transgénico en países que son centro de origen y diversificación del algodón, ha producido ya contaminación genética. En México un estudio de la UNAM mostró que hubo flujo de genes de los cultivos transgénicos de algodón hacia cuatro (de las 8) meta-poblaciones de parientes silvestres presentes en México, y este proceso se ha dado a distancias largas. Inclusive se han encontrado varias proteínas transgénicas que posiblemente se apilaron luego de que se diera el flujo génico (Weiber, 2011).

El algodón tiene varios centros de origen paralelo. Uno de los centros de origen es la India, donde se ha usado su fibra desde hace 5000 años. De ahí se expandió su uso a la China y el centro de Asia, Sicilia, España y África. En Tailandia se conoce por lo menos 16 especies relacionadas con el algodón con propiedades medicinales y es ampliamente utilizado por los curanderos de ese país.

La especie *Gossypium barbadense* es originaria y domesticada en América del Sur. *Gossypium hirsutum* es originario de Centroamérica. Esta especie fue introducida en América del Sur, donde es usado en los cultivos comerciales.

El algodón sudamericano *Gossypium barbadense*, es un cultivo tradicional. En la región amazónica forma parte de sistemas productivos muy complejos, con una diversificación genética muy grande, y con aplicaciones en la medicina tradicional. En la zona Andina Tropical existen varios parientes silvestres del algodón, de los cuales algunos son endémicos. Los parientes silvestres son las especies no cultivadas y que están relacionadas muy cercanamente con un cultivo, con el que pueden reproducirse. Algunos

³² Testimonio Anderson, MPA. Seminario sobre los 10 años de liberación de transgénicos en Brasil. Curitiba 2013.

parientes silvestres son los antepasados directos de los cultivos. Los parientes silvestres generalmente están presentes en los lugares donde se ha originado un cultivo.

La presencia de variedades y parientes silvestres del algodón hace que la introducción de algodón Bt sea una actividad de alto riesgo, pues no se puede descartar la posibilidad de una contaminación genética. Por tal motivo, en Estados Unidos se ha prohibido sembrar algodón Bt al sur de Tampa, porque en el Parque Nacional de los Everglades y en Florida Keys hay poblaciones de algodón silvestre (*Gossypium hirsutum*). En Hawái se prohíbe la comercialización de algodón Bt pues allí hay un pariente silvestre del algodón *Gossypium tomentosum*.

Efectos en la vida del suelo

La rizosfera es la capa que existe en el suelo, a nivel de las raíces, que está conformada por miles de micro-organismos y pequeños invertebrados; y es el sustento de otras formas de vida en la tierra, donde tienen lugar una vasta gama de procesos químicos, físicos y biológicos. Ahí también se enraízan las plantas, y constituye la interface entre el nivel mineral y la biosfera. La rizosfera está conformada por los vegetales, que desempeñan un papel clave en la formación del suelo, ayudando a la meteorización física y química de las rocas, y es la base de alimentación de muchos animales, que con sus restos se forma el humus.

Los cultivos Bt alteran las comunidades biológicas y sus ciclos en la rizosfera.

En el caso de *los cultivos con resistencia a glifosato*, En un estudio comparativo sobre la biología del suelo de la soya transgénica, el equipo de investigación de Kremer (2009) encontraron que el Manganese estaba en estado no disponible biológicamente para ser utilizado por la planta, en cultivos de soya transgénica resistente a glifosato (soya RR), con y sin tratamiento de glifosato, lo que no sucedió con la soya convencional cultivada sin ningún herbicida, o tratada con otros herbicidas.

Los autores explican este fenómeno porque la soya RR tratada o no con glifosato impacta negativamente en las poblaciones de bacterias que reducen Mn como *Pseudomonas spp.* y favorecen bacterias que oxidan Mn como *Fusarium*. La mayoría de bacterias con la capacidad de oxidar Mn producían copiosas cantidades de exo-polisacáridos (EPS).

Uno de los grupos de bacterias aisladas de suelos Mn-oxidantes fueron del género *Agrobacterium*, una bacteria saprofita común en cultivos de soya. Las agrobacterias suelen formar biopelículas compuestas de matrices de EPS en el rizoplaneo donde tienen lugar varias funciones biológicas, incluyendo la oxidación biológica del Mn, lo que se incrementa en presencia de glifosato.

La elevada frecuencia de rizobacterias que producen grandes cantidades de EPS y que tienen propiedades Mn-oxidante (principalmente *Agrobacterium spp.*) en suelos sólo con cultivos de soya resistente al glifosato o que han sido tratados con el herbicida tienen un

efecto potencial perjudicial sobre el crecimiento de las plantas a través de inmovilización Mn.

En otros estudios se ha encontrado que la aplicación de glifosato en el suelo altera los nódulos presentes en plantas como las leguminosas, para fijar el nitrógeno atmosférico y hacerlo disponible para los seres vivos. En los cultivos de soya, entre el 40-70% de sus requerimientos de nitrógeno son obtenidos por este medio, a la vez que asegura la fertilidad del suelo.

Otros estudios han encontrado que la nodulación es siempre menor en los cultivos de soya transgénica con tolerancia a glifosato, aun cuando no se aplique glifosato en las parcelas experimentales, o se use otros herbicidas.

Esto significa que la modificación genética afecta la formación de nódulos, ya sea porque afecta numerosos procesos que facilitan la simbiosis bacterias – raíces de la planta como la actividad de la enzima nitrogenasa y el contenido de leghemoglobina (una hemoproteína presente en los nódulos radiculares fijadores de nitrógeno de las leguminosas) (King, 2001).

Otro estudio encontró una reducción significativa de fijación de nitrógeno y de nódulos en cultivos de soya transgénica con tolerancia a glifosato (Ready et al. 2003).

Otros microorganismos afectados son las bacterias *Pseudomonas*, que cumplen varias funciones en el suelo, pues producen metabolitos secundarios, incluyendo sideróforos (que juegan un papel importante en el ciclo del Fe), antibióticos, hidróxido de cianuro, así como enzimas extracelulares, lo que las convierte en antagonistas de hongos patógenos de plantas. Actúan también en la transformación de manganeso en una forma que esté disponible para las plantas (principalmente en la reducción de manganeso).

En un estudio a largo plazo sobre el impacto de los cultivos de soya resistente a glifosato (soya RR) en las poblaciones de *Pseudomonas*, se encontraron los siguientes resultados:

- 1) Una reducción significativa de las poblaciones de *Pseudomonas* en suelos cultivados con soya RR
- 2) Una reducción aún mayor cuando en esos cultivos se aplicó glifosato
- 3) En suelos sembrados con soya convencional no transgénica, las poblaciones de *Pseudomonas* fueron más abundantes
- 4) La disminución de *Pseudomonas* fue moderada cuando se aplicó otros herbicidas en soya convencional

En este contexto, se eliminan las interacciones entre hongos patógenos y sus antagonistas, favoreciendo a los primeros. Esto significa que en suelos donde se ha aplicado glifosato proliferan hongos patógenos como *Fusarium*, *Phytophthora* y *Phytium*.

Phytium es un hongo patógeno que ocasiona la podredumbre común de las raíces, una enfermedad que puede matar a las plantas en semilleros recién plantado; en tanto que *Phytophthora* produce la lancha de la papa (conocida también como tizón tardío de la papa), pero el género es patógeno también de otros cultivos. *Fusarium* produce la enfermedad de la muerte súbita.

El glifosato no solo incrementa la colonización de estos hongos en las malezas que se quieren controlar, sino también que aumenta su concentración en el suelo. Un estudio demostró que la severidad de la enfermedad de la pudrición de la raíz y la corona fue mayor en los cultivos de cereales plantados en después de un tratamiento con glifosato. Los patógenos oportunistas se esparcieron rápido y colonizaron las raíces de los cereales (Castro *et al* 2007, Krysko-Lupicka y Sudol, 2008)

Los cultivos *Bt los transgénicos* han sido desarrollado para matar insectos que se transforman en plagas agrícolas por razones ambientales (como son loas condiciones creadas por los monocultivos). Pero también matan a insecto y otros invertebrados benéficos que viven en el suelo, y que son útiles para la agricultura y a la vida microbiana del suelo.

Los residuos del algodón Bt o el exudado de las raíces, pueden generar impactos negativos en la microflora del suelo Un equipo de investigadores de la Universidad de Nueva York y el Laboratorio de Ecología de Suelos del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas estudió los efectos el movimiento vertical en el suelo de una de las toxinas insecticidas de la bacteria llamada Cry1AB (Saxena *et al*, 2002).

Esta proteína fue evaluada en columnas de suelo purificadas, como exudados de la raíz de maíz Bt y como residuos de maíz de Bt. Se evaluó, además, distintos niveles de arcilla en el suelo.

Los investigadores encontraron que en suelos que contienen altas concentraciones de arcilla, la persistencia de la proteína Cry1Ab y su adherencia a las partículas del suelo era muy fuerte. Del mismo modo, la concentración de Cry1Ab fue más alta en suelos superficiales de tierra, lo que indica que la proteína podría ser transportada hacia aguas superficiales a través de la escorrentía y la erosión.

Por otro lado, la proteína fue lixiviada fácilmente en suelos con concentraciones más bajas de arcilla, lo que significa que podría contaminar agua subterránea.

En ambos casos, la proteína transgénica sobrevive a la planta transgénica y mantiene su capacidad insecticida. En el caso de los suelos arcillosos, la proteína permanece en los suelos superficiales afectando a los organismos presentes, y al ser arrastrada a las fuentes de agua, también la contamina.

En el caso de suelos no arcillosos, la contaminación alcanza las aguas subterráneas, que en muchos casos es la única fuente de agua tanto para el consumo humano como para la agricultura. La proteína estuvo ausente en las columnas en donde se había sembrado o agregado residuos de maíz no-Bt (Saxena *et al*, 2002).

Los resultados sugieren que el algodón Bt puede limitar la disponibilidad de N, pero mejora la disponibilidad de P en estos suelos. Además, alteran la dinámica del ciclo de nutrientes y disminuyen la actividad microbiana en la rizosfera

Las toxinas Bt producidas por cultivos transgénicos, pueden ingresar al suelo a través de exudados de las raíces (Saxena *et al*, 1999), residuos vegetales (Zwahlen *et al.*, 2003) o heces de animales que se han alimentado de material vegetal Bt (Weber y Nentwig, 2006). Una vez en el suelo, las toxinas Cry pueden unirse a las partículas de arcilla y humus

(Tapp y Stotzky, 1998), lo que las protege de la biodegradación y los efectos insecticidas (Koskella y Stotzky, 1997), y seguir produciendo sus efectos insecticidas en la rizosfera.

Súper malezas

Debido al uso continuo de un mismo herbicida han surgido malezas resistentes a herbicidas. Lo que ocurre en realidad es que estas malezas han podido adaptarse a las fumigaciones con glifosato (u otros herbicidas): se sabe que algunas especies pueden potenciar la actividad de los genes relevantes, aumentando la actividad global de sus enzimas EPSPS. Esto es considerado como un proceso epigenético de adaptación, que puede transmitirse a las siguientes generaciones. En consecuencia, estas malas hierbas se vuelven resistentes al glifosato, y pueden adquirir adicionalmente una mayor aptitud biológica para propagar más rápido que nunca en los campos. Casi todas las áreas agrícolas donde hay cultivos transgénicos están ya muy afectadas por estas malas hierbas resistentes a herbicidas.

En un contexto de monocultivo la emergencia de plantas invasivas (o malezas) es inevitable, y el control químico es el más barato y fácil, por eso es que han sido tan exitosos los transgénicos resistentes a herbicidas, pero su uso continuo y excesivo ha hecho que rápidamente se desarrollen las súper malezas.

En los campos de soya transgénico en Estados Unidos, Argentina y Brasil, se han reportado muchos casos de súper-malezas resistentes a glifosato, siendo necesario usar herbicidas más potentes y venenosos. En Estados Unidos se han registrado más de 4 millones de hectáreas infestadas por súper-malezas con resistencia a glifosato.

La respuesta a este problema de la industria biotecnológica ha sido crear transgénicos con resistencia a múltiples herbicidas, más tóxicos aún que el glifosato, como es el glufosinato de amonio, dicamba, 2,4D (uno de los componentes del agente naranja).

Los nuevos transgénicos resistentes al herbicida dicamba, están presentando graves problemas en Estados Unidos debido a la deriva, pues el viento acarrea el químico y ha destruido millones de hectáreas de cultivos no transgénicos, pero también de transgénicos resistentes a glifosato. La lamentable respuesta de los agricultores del cinturón agrícola de Estados Unidos, que están tan acostumbrados a los monocultivos, y que han perdido prácticamente toda su biodiversidad agrícola es sembrar maíz o soya resistente a dicamba. Esto significa que en los próximos años habrá menos pérdidas causados por la deriva del herbicida en los predios agrícolas que han adoptado los cultivos con resistencia a dicamba. Sin embargo, habrá nuevas víctimas de este modelo: los cultivadores de frutas, verduras y nueces, así como a árboles y pastos (Charles, 2018).

Súper plagas

Los cultivos transgénicos con resistencia a insectos se transforman en plantas insecticidas. Como con cualquier otro insecticida, las plagas a las que se quiere exterminar pueden desarrollar resistencia a la toxina Bt, por lo que los campesinos van a tener que volver a usar insecticidas convencionales.

Cuando los insectos desarrollan resistencia a un determinado insecticida, lo que hace la industria es desarrollar un insecticida más fuerte. Siguiendo este patrón, deben producir, cada vez que lo crean necesario, una nueva variedad transgénica que contenga toxinas más fuertes para enfrentar a los insectos, lo que significaría un mayor impacto en el medio ambiente y en la salud de los consumidores.

Este fenómeno se ha registrado en casi todos los países donde se cultivan con semilla Bt. En el cinturón del maíz de Estados Unidos donde varias plagas del maíz han desarrollado resistencia a los cultivos Bt. Aunque se dice que son las prácticas agrícolas de los productores de maíz las responsables del surgimiento de la resistencia, hay estudios que muestran que los insectos dejan de ser susceptibles a los cultivos Bt, independientemente de las prácticas agrícolas aplicadas. Simplemente, las plagas se hacen resistentes debido contacto continuo a un mismo insecticida (en este caso, las toxinas Bt)³³.

En Sudáfrica barrenador del tallo del maíz ha desarrollado resistencia al maíz Bt que contiene la toxina transgénica Cry1Ab en África del Sur, que fue el primer país en producir comercialmente los cultivos Bt en África (Third World Network Biosafety Information Service, 2013). El artículo analiza los factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia y pone de relieve que fueron ignoradas muchos de los primeros signos de advertencia que debería haber alertado a los reguladores de los problemas inminentes.

Se han reportado la emergencia de poblaciones resistentes del barrenador del tallo del maíz africano en nuevas localidades en Sudáfrica en una base regular. Por lo tanto, la toxina Cry1Ab ha perdido su eficacia como insecticida contra la plaga en muchas áreas a lo largo de la región productora de maíz donde se plantan los eventos de maíz Bt de un solo gen.

Se ha reportado también el desarrollo de resistencia a plagas del maíz transgénico Bt en Brasil (Monnerat *et al*, 2015).

Según los científicos, donde la resistencia es frecuente, las únicas opciones viables para reducir la presión de selección son la retirada del producto y / o la creación de refugios para que los insectos se apareen en maíz no transgénico y se demore el desarrollo de resistencia a los venenos Bt, pero esta es una estrategia que tampoco ha dado buenos resultados.

El desarrollo de resistencia ha sido también encontrado en algodón transgénico en India (Ranjith *et al*, 2010) donde se realizó un estudio hecho en la Universidad de Ciencias Agrícolas, Raichur campus, India, y se descubrió que el gusano de la cápsula de la India *Helicoverpa armigera*, la plaga más importante del capullo del algodón en ese país. Había sobrevivido en híbridos comerciales de algodón Bt (Cry1Ac y con genes apilados Cry1Ac y Cry2Ab) en parcelas experimentales.

Hay reportes científicos que muestran el desarrollo de resistencia de plagas del algodón en China (Tabashnik *et al*, 2012), y Estados Unidos, donde se ha reportado resistencia múltiple a las toxinas Bt (Kabashnik, 2015)³⁴.

³³ Ver por ejemplo Shrestha *et al* (2018). Effects of field history on resistance to Bt maize by western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae)- Plos One <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200156>

³⁴ El autor hace una revisión sobre la emergencia de resistencia a los cultivos Bt en varios países del mundo.

El que los insectos desarrollen resistencia a las toxinas Bt presentes en los cultivos transgénicos, obliga a los agricultores a usar más insecticidas, lo que implica que los daños a la naturaleza y los seres humanos se agrava.

Conclusiones

La tecnología con la que se desarrollan los cultivos genéticamente modificados implica una serie de alteraciones a los procesos evolutivos y biológicos, por lo que una vez en el campo, son causantes de una serie de daños a la naturaleza, vulnerando sus derechos.

En primer lugar, tenemos las toxinas insecticidas (proteínas Cry) que, a través de la ingeniería genética, llegan a formar parte de la bioquímica de los cultivos transgénicos. Estas toxinas se expresan en todos los órganos de las plantas, afectando a una amplia variedad de especies de insectos y otros invertebrados, desencadenándose una reacción en cadena de afectaciones en animales predadores de dichos invertebrados, hongos endófitas, etc.

Las toxinas transgénicas llegan al suelo a través de los residuos vegetales o de los exudados de las raíces, los microorganismos del suelo, alterando las poblaciones microbiológicas y la cadena trófica de la rizosfera. Lo mismo sucede con los exudados de los cultivos resistentes a glifosato en el suelo. La bibliografía científica muestra que hay alteraciones en el ciclo de algunos micro- elementos, lo que a su vez altera la composición de microorganismos benéficos, especialmente relacionados con la defensa de la planta frente a agentes patógenos o aspectos estresantes presentes en el medio ambiente.

La soya por ser una leguminosa, forma nódulos en los que habitan de manera simbiótica bacterias fijadoras de Nitrógeno. En el caso de la soya transgénica se ha visto que hay una disminución de las poblaciones de estas bacterias, al igual que de los hongos micorrizas que juegan un papel importante en la absorción de fósforo.

A esto hay que sumar la pérdida de agrobiodiversidad por contaminación y erosión genética.

Cuando los insectos desarrollan resistencia a un determinado insecticida, lo que hace la industria es desarrollar un insecticida más fuerte. Por eso hay en el mercado nuevas variedades de semillas transgénicas con toxinas cada vez más fuertes o con múltiples toxinas (en los llamados cultivos con genes apilados). El fracaso del modelo transgénico Bt ha sido tan evidente, que los productores deben aplicar insecticidas adicionales.

Los mismo sucede con los cultivos resistentes a herbicidas. El uso continuado de un solo agrotóxico ha generado el desarrollo de súper malezas, lo que ha dado lugar al desarrollo (por parte de la industria biotecnológica) de nuevas semillas transgénicas resistentes a herbicidas más tóxicos .

Ante el creciente volumen de evidencias sobre los distintos tipos de afectaciones que ocasionan los cultivos transgénicos una vez que son liberados en el campo, se puede afirmar que estos vulneran los distintos componentes de los derechos de la naturaleza reconocidos por la Constitución del Ecuador.

CAPÍTULO CUATRO

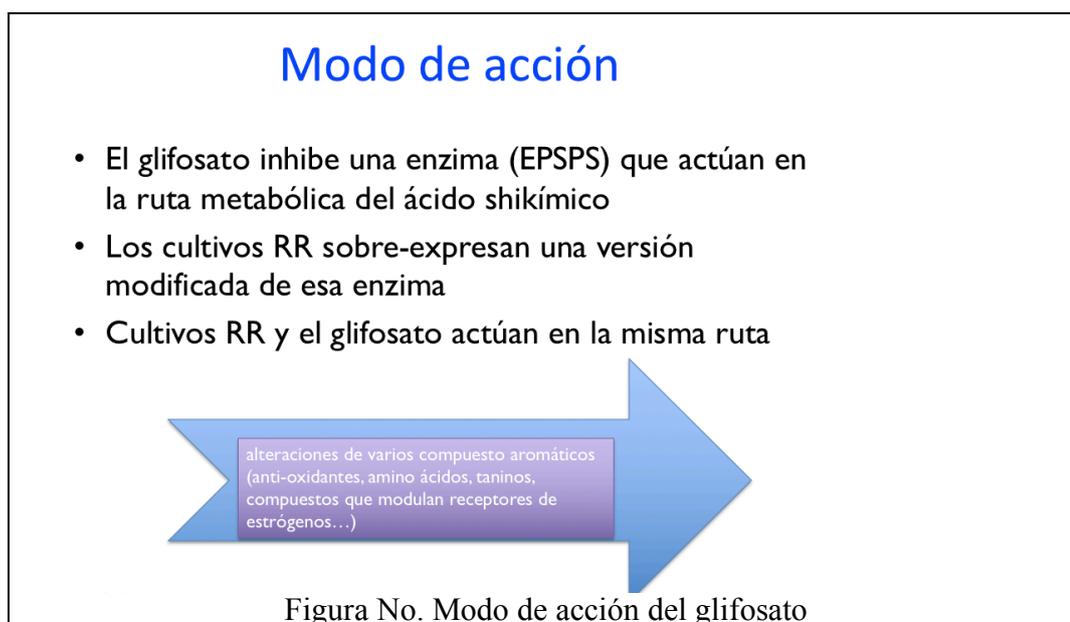
GLIFOSATO Y EL PAQUETE TECNOLÓGICO DE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

El glifosato, el herbicida más usado en la historia, es el principal componente del paquete tecnológico de los cultivos transgénicos. Se sintetizó por primera vez en 1950 y se patentó como un quelante³⁵ químico, capaz de unirse a metales como el calcio, magnesio y manganeso.

Debido a su capacidad de unirse al manganeso, este agrotóxico inhibiere a una enzima que juega un papel muy importante (en plantas y bacterias), en la biosíntesis de tres aminoácidos que se encuentran en todas las proteínas: aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano, y de otros compuestos aromáticos que juegan un papel muy importante en los mecanismos de defensa de las plantas y microorganismos (Richmond, 2018).

Debido a esta propiedad, se lo desarrolló comercialmente como un herbicida de amplio espectro. En 1974, la empresa de agroquímico Monsanto desarrolló un herbicida con base a glifosato con el nombre de Roundup, que contiene además algunos adyuvantes que aumentan la toxicidad del herbicida.

El Roundup fue originalmente utilizado para el control de malezas en operaciones específicas de agricultura, pero con la adopción de las semillas transgénicas resistentes a este herbicida, su consumo de disparó significativamente, y sus efectos negativos también han crecido.



³⁵ Sustancia con la propiedad de combinarse con los iones positivos bivalentes y trivalentes, formando complejos estables, desprovistos de toxicidad y eliminables a través de la orina.

Impactos en las Interacciones Ecológicas

Los impactos ecológicos del programa de erradicación de cultivos ilícitos en los ecosistemas boscosos, no pueden ser evaluados analizando únicamente las zonas deforestadas. Los cambios que producen en la estructura y funciones del bosque, afectan la interacción entre las comunidades biológicas, la sucesión ecológica y las redes tróficas, la disponibilidad de nichos ecológicos, alterando el equilibrio ecológico.

La alteración de determinadas poblaciones, puede tener efectos negativos en otras poblaciones de una misma comunidad biológica, produciéndose un fenómeno que se llama "efecto cascada".

Por ejemplo, algunas poblaciones vegetales pueden ser especialmente vulnerables al glifosato o sus coadyuvantes. Estas plantas pueden ser el alimento de algunas especies de insectos, los mismos que se afectarán por falta de alimento, a su vez, hay pájaros o anfibios que se alimentaban de estos insectos, y estos también se afectarán. Si hay otros animales que dependían para su alimentación de esos pájaros, también serán afectados, produciéndose impactos en toda la red trófica.

Estas mismas plantas pueden mantener relaciones simbióticas con otras especies que pueden ser epífitas, saprófitas, parásitas; con micro-organismos fijadores de nitrógeno o micorrizas. Impactos en estas comunidades vegetales significa la desaparición de nichos ecológicos y un desequilibrio en las interrelaciones biológicas existentes.

A nivel del suelo también habrán efectos negativos, porque posiblemente las plantas originales permitían que se desarrolle en el suelo un determinado tipo de comunidades micro-biológicas, las mismas que desaparecerán y el proceso de descomposición y el ciclo de nutrientes se alterará.

Por otro lado, dado que hay especies que son más susceptibles al herbicida que otras, habrá una selección de las especies más resistentes a la contaminación, alterándose la estructura ecológica del ecosistema.

Impacto en las redes tróficas, sucesión ecológica y fenología

El uso de herbicidas en las poblaciones de plantas y su abundancia es un fenómeno que ha sido constatado en las zonas donde predomina los cultivos intensivos. Esto ha sido constatado en América del Norte y Europa.

Científicos canadienses (Boutin *et al*, 2014) cuantificaron la sucesión de comunidades vegetales cercanas a los monocultivos y afectadas por la deriva y compararon su susceptibilidad a herbicidas, y encontraron que hubo más sensibilidad en las plantas que estaban en períodos reproductivos, lo que tiene un efecto mayor en la salud de las comunidades vegetales. Se encontró también que la tasa de reproducción de las plantas se redujo durante el período de fumigaciones.

El impacto del glifosato en las redes tróficas fue analizado a través de un estudio hecho en Australia donde se encontró que especímenes de 5 especies de pinzones nativos murieron luego de estar expuestas a semillas tratadas con glifosato (Evans y Batty, 1986).

Otros estudios han demostrado que las aves pueden afectarse por alteraciones de sus sitios de alimentación, de anidación, por cambios en la sucesión natural de los ecosistemas, o por disminución de sus fuentes alimenticias. Esto hace que la densidad de poblaciones de aves disminuya, que se seleccionen algunas especies más tolerantes a ecosistemas alterados, desfavoreciendo a especies con requerimientos ecológicos más reducidos (MacKinnon y Freedman, 1993).

Resultados similares han sido encontrados en poblaciones de pequeños mamíferos. Estas poblaciones se han impactado negativamente luego del uso de glifosato para clarear el bosque. Estas especies perdieron sus fuentes alimenticias, especialmente plantas y artrópodos (D Anieri *et al*, 1987; Richie *et al*, 1987).

Santillo y colaboradores (1989) en su estudio en el Estado de Maine encontraron que luego de la aplicación de glifosato, la composición vegetal se hacía menos compleja, lo que denota cambios en la sucesión natural de la vegetación local (Santillo, 1989).

El impacto del glifosato en la sucesión ecológica boscosa fue estudiado por Bell y colaboradores (1997), que hicieron una investigación sobre el efecto del glifosato en el noroeste de Ontario – Canadá en bosques deciduos temperados. Ellos encontraron que el uso de este herbicida disminuía la cobertura vegetal de árboles deciduos, arbustos y helechos. En el caso de bosques de coníferas, ellos encontraron que el glifosato reducía la vegetación leñosa y herbácea. Es decir, ejercía un impacto en la composición y estructura de estos bosques.

Debido a la deriva, el glifosato puede afectar la vegetación aledaña a los monocultivos, especialmente cuando se hacen fumigaciones aéreas. Un problema mucho mayor se presenta con el dicamba, un herbicida que está siendo reemplazado en Estados Unidos, dado el rápido desarrollo de resistencia por parte de las “malezas” que se quiere controlar.

El glifosato, aún en dosis sub letales pueden afectar la productividad de las especies vegetales, los patrones de floración, producción de semillas, variabilidad de semillas y la invasión de nuevas especies en estos espacios, aunque el comportamiento de cada especie puede ser distinto, dependiendo de la estructura de la comunidad vegetal afectada.

Cambios en la fenología en comunidades vegetales en bosques tropicales es un factor crítico para el equilibrio ecológico. Varios estudios se han hecho sobre la co-evolución entre plantas y animales; y la relación entre la floración o fructificación de ciertas especies vegetales con la ecología reproductiva de determinados especies polinizadoras, responsables de la dispersión de los frutos, etc. (Bawa y Hadley, 1990). Cambios en la fenología de comunidades vegetales generados por efectos del glifosato, pueden interferir en estos procesos.

IMPACTOS EN EL CICLO DE NUTRIENTES

Varios estudios demuestran el impacto que tiene el glifosato en comunidades de microorganismos que juegan importantes roles en el ciclo de nutrientes.

Como es bien conocido, en los bosques tropicales el ciclo de los nutrientes está acelerado, almacenándose la mayor parte de la misma en la parte viva del sistema. Por eso la mayor

parte de la producción primaria neta se utiliza en la producción de hojas y frutos. Este hecho está relacionado con la baja disponibilidad de nutrientes minerales en el suelo.

Por esa baja disponibilidad de nutrientes, en los bosques tropicales se desarrollan asociaciones entre las raíces de los árboles con ciertos hongos, formándose las micorrizas fúngicas. Éstas transfieren a las raíces nutrientes que provienen de la descomposición de la materia orgánica existente en el suelo. Este proceso permite que la escorrentía produzca pequeñas pérdidas de minerales, y determina la rápida circulación de estos.

También en el suelo se encuentran poblaciones de bacterias y cianobacterias, muy importantes en el mantenimiento de los altos valores de biomasa, puesto que son fijadoras de nitrógeno. Determinadas cianobacterias además forman parte de líquenes que igualmente intervienen en el ciclo del nitrógeno.

Dada la baja fertilidad de los suelos tropicales, un adecuado equilibrio en el ciclo de nutrientes, y de los micro organismos involucrados en cada uno de ellos, es vital.

Bacterias Nitrificantes. Existen varios estudios que demuestran la interferencia del glifosato en los procesos de fijación de Nitrógeno, tanto en bacterias de vida libre como de bacterias que se establecen relaciones simbióticas con plantas.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno juegan un papel muy importante en el ciclo de este elemento, que es esencial para el desarrollo de las plantas, ya que estas no tienen acceso directo al nitrógeno en forma gaseosa (N_2) que representa el 80% de la atmósfera terrestre. Solo algunos microorganismos (como *Rhizobium*) son capaces de hacer transformarlo en una forma biológicamente disponible para las plantas. Se ha encontrado que el glifosato transforma las comunidades microbiológicas de bacterias fijadoras de Nitrógeno (*Rhizobium*) y el número total de comunidades bacterianas en distintos tipos de suelos agrícolas (Cherni *et al*, 2015; Druille, 2013) afectando por tanto la salud del suelo.

En estudios hechos con soya transgénica con resistencia glifosato, Zablotowicz y Reddy (2004) encontraron que la bacteria nitrificante *Bradyrhizobium japonicum*, que fijan nitrógeno en las raíces de la soya, posee una enzima sensible al glifosato y que cuando está expuesta a este herbicida, acumula ácido chiquímico y ácidos hidroxibenzoicos, lo que produce la inhibición del crecimiento y hasta la muerte de la bacteria en altas concentraciones. Se encontró además que el glifosato se acumula en los nódulos de las raíces de la soya. Esto repercute en el crecimiento de todas las plantas leguminosas (que establecen relaciones simbióticas con bacterias nitrificantes) y de la salud del suelo en general. Este herbicida afecta pues al ciclo del nitrógeno en agroecosistemas. Este fenómeno también reportado por Hutchinson (1995).

Un estudio hecho en la India con suelos degradados provenientes de plantaciones de te tratados con glifosato, redujo colonias de bacterias fijadoras de Nitrógeno (Bezbaruah *et al*, 1994). Se ha reportado también una inhibición en la nodulación en raíces de trébol en suelos con niveles de glifosato de entre 2 y 2000 mg/Kg de glifosato. El efecto persistió 120 días después del tratamiento (Eberbach, et al, 1983).

Se han hecho también estudios con bacterias nitrificantes de vida libre. Santos y Flores (1995) estudiaron los efectos del glifosato en la fijación de Nitrógeno en bacterias heterotróficas de vida libre. Ellos encontraron que dosis de glifosato superiores a 4 Kg/Ha

inhibía la fijación de Nitrógeno. El herbicida afectaba también la respiración y causaba una reducción en el tamaño celular.

Dada la baja fertilidad de los suelos tropicales, la fijación biológica del Nitrógeno es vital para mantener el equilibrio de nutrientes en el suelo.

Hongos micorrizas. La interferencia de glifosato en las relaciones entre hongos micorrizas, nutrientes y plantas ha sido comprobado a través de varias investigaciones. Cuando se agrega glifosato al suelo, es absorbido por las raíces y transportado por el xilema³⁶, lo que causa una inhibición del crecimiento en las plantas.

Las micorrizas³⁷ juegan un rol importante en el ciclo del fósforo, porque ayudan a la planta. El grupo metilfosfónico³⁸ presente en el glifosato podría competir con los fosfatos inorgánicos presentes en el suelo. Un trabajo llevado a cabo en el Instituto de Fisiología Vegetal, de la Universidad de La Plata Universidad Nacional, estudió el efecto de la disponibilidad de fósforo y los residuos de glifosato en el suelo, sobre el crecimiento de las plantas de pimienta, en plantas no inoculadas o inoculadas con la micorriza *Glomus mosseae* o *G. intraradices*. Encontraron que, en dosis altas, el glifosato redujo la colonización de la raíz, y este efecto se incrementó por los niveles más altos de fósforo en el suelo debido a la presencia de glifosato (Beltrano et al, 2013).

En un estudio hecho en Finlandia se analizó los efectos del tratamiento con glifosato en la presencia de micorrizas arbusculo-vesiculares en dos especies herbáceas: una fumigada con el herbicida, y la otra, una especie no-objetivo. Encontraron que el tratamiento con glifosato redujo la colonización total de micorrizas en las dos especies. Los investigadores detectaron residuos de glifosato en las plantas en la siguiente temporada de siembra, así como también una reducción de micorrizas asociadas con los pastos (Helander *et al*, 2018).

Resultados similares han sido reportados e Brasil, donde se encontró también problemas en la nodulación de las raíces de soya (dos Santos *et al*, 2006).

La relación entre hongos micorrizas con las raíces de algunas plantas y árboles es esencial para la adsorción de Fósforo, especialmente en suelos tropicales. En los suelos tropicales, varias especies de importancia comercial se asocian con micorrizas arbusculares vesiculares, las que juegan un papel fundamental en la adsorción de fósforo, nutriente que es muy escaso en este tipo de suelos.

Es importante señalar que las micorrizas arbusculares vesiculares influyen en la nodulación en leguminosas para la fijación de Nitrógeno. El glifosato afecta estas relaciones simbióticas.

³⁶ Tejido vegetal conductor, formado por células muertas, rígidas y lignificadas que conducen la savia y sostienen la planta.

³⁷ Las micorrizas son hongos que hacían simbiosis con las raíces de las plantas. La relación planta - micorriza es tan antigua como la historia de las plantas sobre la Tierra, desde hace más de 370 millones de años.

³⁸ Conocido como AMPA, un subproducto de la degradación del glifosato en el suelo.

Procesos de Descomposición de Materia Orgánica. Los micro-organismos del suelo son los responsables de la descomposición de materia orgánica en nutrientes y del ciclo de nutrientes. El glifosato y el producto de su descomposición el AMPA, pueden permanecer en el suelo por varios meses (especialmente en lugares con climas fríos), afectando por periodos prolongados a los microorganismos benéficos del suelo.

Dado que el ciclo metabólico del ácido chiquímico está también presente en microorganismos, el glifosato los afecta adversamente, y por lo mismo, interfiere en los procesos de descomposición de la materia orgánica.

Un equipo de investigación egipcio estudió los impactos del glifosato en hongos del suelo y en la descomposición de materia orgánica. Ellos encontraron que el herbicida aumentaba la presencia de ciertas especies de hongos y disminuía otras especies. Se registró también disminución en la tasa de respiración y de descomposición de la materia orgánica (Abdel-Mallek *et al*, 1994)

En Argentina la utilización de grandes cantidades de glifosato asociada al cultivo de soja transgénica está afectando ya el equilibrio natural y la vida microbiana del suelo, originando problemas en la descomposición de la materia orgánica, y amenaza la biodiversidad y el futuro productivo de extensas comarcas (Joensen y Semino, 2004).

En Canadá se ha comprobado asimismo que el cultivo de colza resistente a herbicidas afecta a la biodiversidad y actividad microbiana en los suelos (Dunfield y Germida, 2001).

El glifosato tiene efectos negativos en nematodos y otras lombrices e invertebrados. Una investigación en Nueva Zelandia mostró que el glifosato tenía efectos significativos en el crecimiento y sobrevivencia de lombrices comunes del suelo. Aplicaciones cada 15 días en dosis bajas (1/20 de la dosis normal), redujeron el crecimiento e incrementaron el tiempo de madurez y la mortalidad (Springett, Gray 1992; Cox, 1995).

Aumento de Organismos Patógenos

El glifosato aumenta el crecimiento de hongos patogénicos según muchas investigaciones publicadas en la literatura científica. Como resultado, estos hongos predominan en un área para liberar sus propias toxinas (micotoxinas), que son perjudiciales para muchas de las otras formas de vida cercanas, incluso mamíferos.

Uno de los géneros que tiende a aumentarse en presencia de glifosato es el género *Fusarium*. En Estados Unidos se ha observado que la utilización cada vez mayor de glifosato en la soja transgénica, incrementa los problemas de colonización de las raíces por *Fusarium spp*, un hongo que produce grandes daños en los cultivos y cuya presencia en los alimentos puede tener efectos nocivos para la salud humana, llegando a ser mortal en concentraciones elevadas (Kremer y Donald, 2003).

El glifosato altera las poblaciones de microorganismo, beneficiando a ciertos organismos patógenos, en detrimento de los beneficiosos. Por ejemplo, se ha reportado que el uso de glifosato incrementa la patogenicidad y la sobrevivencia del hongo *Gaemannomyces graminis*, agente causal de la del pietín del trigo. Se observó también que por efecto

del herbicida, disminuyeron los hongos del suelo que son antagonistas del patógeno, y que podrían reducir significativamente la incidencia de la enfermedad.

Se ha reportado que el glifosato incrementa además la susceptibilidad del fréjol a la antracnosis (cuyo agente causal es el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*) y la incidencia de *Rhizoctonia* en la pudrición de la raíz de cebada (Johal y Rahe, 1988; Smiley, 1992), y en los organismos saprofiticos del suelo asociados (Mekwatanakarn y Silvassithamparam, 1987). Todo esto implica una mayor aplicación de agrotóxicos, con todos los impactos que se desencadenan en la naturaleza.

Toxicidad en organismos acuáticos

El glifosato altera desde el primer eslabón de la cadena trófica en ecosistemas acuáticos. En su estudio sobre los efectos del glifosato en el reino animal, Gill *et al* (2017) señala que en los sistemas acuáticos, muchos invertebrados inferiores se ven directamente afectados por la naturaleza letal del glifosato. Además, el uso excesivo de glifosato en el suelo y su lixiviación en sistemas acuáticos ha reducido la capacidad de cría de huevos y ha obstaculizado el proceso de eclosión en caracoles y erizos de mar.

Un estudio hecho en la Universidad Federal de Río Grande del Sur (Brasil), analizó el efecto de diversas formulaciones de glifosato en el hígado del pez *Jenynsia multidentata*, nativo del Cono Sur, y se encontró que el herbicida causa daños histológicos en el hígado, cerebro y branquias del pez. La toxicidad varió en función de las formulaciones, la edad y el sexo de los animales (Sánchez *et al*, 2019).

Aunque se afirma que el glifosato no se bioacumula en las cadenas tróficas, el hecho de que altere la ecología de los productores primarios, está alterando el equilibrio ecológico de toda la comunidad. Este es un problema grave para los ecosistemas tropicales, pues en estas regiones existen abundantes cuerpos de agua.

Hay un estudio comparativo sobre el impacto de herbicidas y surfactantes hecho por Abdelghani (1997), en especies acuáticas. En el estudio se analizó la toxicidad aguda de tres herbicidas solos o como mezclas (2,4-D, Garlon-3A y Roundup) y un aditivo químico (el surfactante Syndets) a tres especies de agua dulce: el bagre, ojón o chopa criolla (*Lepomis macrochirus*) y un cangrejo de río.

De los tres herbicidas, el Roundup fue más tóxico para el bagre y el Ojón que el Garlon-3A y el 2,4-D. Los resultados encontrados para el cangrejo del río fueron exactamente los contrarios a los que se encontró en los peces.

Hay otro estudio que muestra que el glifosato es nocivo en concentraciones sub letales para la carpa *Cyprinus carpio* (Neskovic *et al* 1996). Entre los efectos reportaron cambios en la actividad enzimática a nivel de plasma, hígado, riñones. Encontraron además alteraciones morfológicas en las branquias, hígado y riñones.

Otros estudios revelan que el glifosato es nocivo también para otros organismos acuáticos. Se ha reportado por ejemplo cambios en el desarrollo y la reproducción del caracol acuático *Pseudosuccinea columella*, cuando este fue expuesto a concentraciones subletales (Tate *et al*, 1997). Los investigadores encontraron además que cuando el caracol fue expuesto a distintas concentraciones de glifosato, se producía un estímulo en

su crecimiento y desarrollo; había un incremento en el número de huevos que tenían más de un embrión embriones. Esto significa que la población de caracoles de esa especie podía incrementarse. Por otra parte, esta especie de caracol es uno de los huéspedes de un parásito del hígado de las ovejas. El estudio concluye que la presencia de glifosato a niveles bajos, puede promover el incremento de este parásito.

Aunque el glifosato no se aplica directamente a los suelos o los cuerpos de agua, una concentración significativa del compuesto puede llegar al suelo y los cuerpos de agua durante las fumigaciones, y migrar, afectando a la microbiología del suelo y los organismos acuáticos.

La producción de soja con resistencia a glifosato (RR) introduce plaguicidas en los agroecosistemas, los que son transportados a las aguas superficiales que los atraviesan y determinan un riesgo para la biota acuática.

Este problema ha sido estudiado por el equipo de investigación de la Universidad de la Plata–Argentina, liderado por el Dr. Damián Marino quien ha realizado análisis ecotoxicológico de los impactos de los plaguicidas en el medio ambiente, especialmente del glifosato por ser el herbicida más usado en ese país.

En uno de sus estudios (Aparicio, 2013), analizaron el destino ambiental del glifosato y su principal producto de degradación, el aminometilfosfónico (AMPA), en las aguas superficiales y el suelo de las cuencas agrícolas. Se muestrearon 16 sitios agrícolas y 44 arroyos en las cuencas agrícolas 3 veces durante el año 2012.

Se detectó glifosato en los suelos de cultivo en concentraciones entre 35 y 1502 kg g (-1), mientras que la concentración AMPA varió de 299 a 2256 mg kg (-1). En el agua de las superficies estudiadas, se detectó la presencia de glifosato y AMPA en aproximadamente 15% y 12% de las muestras analizadas, respectivamente. Se encontró glifosato en el 67% de las muestras de materia particulada en suspensión, y AMPA en el 20% de las muestras. Se detectó glifosato y AMPA en los sedimentos de las corrientes en 66% y el 88,5% de las muestras, respectivamente. En 2017 se analizó la presencia de glifosato y otros plaguicidas en la zona de influencia de los cultivos transgénicos en la cuenca de los ríos Paraguay – Paraná, y se encontró concentraciones por encima de lo que los lineamientos recomendados para proteger la biota acuática (Etchegoyen, et al 2017)

En un estudio posterior advirtieron sobre el potencial transporte vertical de estos químicos a través del perfil del suelo con la posibilidad de llegar a las aguas subterráneas (Lupi *et al.* 2015). El glifosato y el AMPA (que es mucho más persistente en los ecosistemas acuáticos continúan afectando a los organismos dulceacuícolas en las zonas bajo la influencia de los cultivos de soja transgénica, afectando sobre todo al zooplancton. Estos efectos son aún más graves cuando se combinan con otros plaguicidas (por ejemplo insecticidas), que es la forma como se usa el glifosato en los ecosistemas agrícolas (Demetrio, 2012).

EFECTOS EN LOS ECOSISTEMAS: El Efecto de Borde

Los impactos del glifosato en el ecosistema boscoso no se limitan al área directamente afectada, sino que es mucho mayor debido al efecto de borde.

El efecto de borde afecta la composición de comunidades vegetales cerca del borde ocasionado por efectos del herbicida. Cerca del borde las especies típicas de una comunidad clímax, son desplazadas por especies pioneras. El efecto de borde afecta además la eco-fisiología de las plantas, por ejemplo su tolerancia a las variaciones de temperatura y humedad así como a su potencial hídrico (Kapos, Wandelli, Camargo y Ganade, 1997).

Puesto que el efecto de borde produce también cambios en el micro clima, que está fuertemente determinado por las comunidades vegetales presentes, este fenómeno también afecta a las comunidades microbiológicas (Stephen, Turton y Freiburge, 1997). Los efectos micro climáticos debido al borde fueron registrados hasta 30 metros dentro del bosque, a partir de la zona deforestada.

El efecto de borde afecta también a los microorganismos de la filosfera los que están más expuestos a las variaciones térmicas, a las fluctuaciones de humedad y del potencia hídrico en el borde, que bajo la sombra.

En estudios hecho con invertebrados del suelo, se ha encontrado que las poblaciones de Coleópteros se afectan por el efecto de borde entre 100 y 210 metros en bosques que han sido perturbados (Didhám, 1997).

EFFECTOS EN LA FAUNA

Uno de los principales problemas con el uso de pesticidas en general, es que estos afectan a otros organismos distintos a los que se quiere combatir. En cuanto al glifosato, se afirma que por interferir en la ruta metabólica del ácido chiquímico, que está ausente en animales, este no los afecta.

Sin embargo, existe abundante bibliografía que demuestra lo contrario. Los impactos pueden producirse por una afectación directa en los individuos expuestos al plaguicida, o por una destrucción de la base de sobrevivencia de la especie.

Un meta-análisis sobre los efectos toxicológicos del glifosato y los metabolitos en los organismos del Reino Animalia, tanto organismos unicelulares como multicelulares, fue hecho por Gill *et al* (2017) de la Universidad de Punjab – India. Ellos encontraron que se ha encontrado efectos adversos sobre los organismos unicelulares a través de muchos experimentos. Por ejemplo, el glifosato ha reducido la tasa de fotosíntesis en *Euglena*; ha disminuido el crecimiento radial de las especies de hongos micorrizas y se ha reportado la reducción de las poblaciones de ciertas bacterias presentes en la rizosfera.

El glifosato también representa una seria amenaza para los organismos multicelulares. Sus efectos toxicológicos han sido reportados en grupo de invertebrados inferiores hasta vertebrados superiores. Se han observado efectos en anélidos (lombrices de tierra), artrópodos (crustáceos e insectos), moluscos, equinodermos, peces, reptiles, anfibios y aves.

Se ha documentado que el glifosato produce efectos toxicológicos así como la genotoxicidad, citotoxicidad, aberración nuclear, alteración hormonal, aberraciones cromosómicas y daño al ADN, tanto en vertebrados superiores como los humanos.

Efectos sobre Insectos Benéficos. Varias especies de artrópodos benéficos, entre los que se incluyen insectos, arañas y ácaros, que son predadoras de plagas agrícolas, son afectadas por la exposición al glifosato.

El uso de glifosato en ambientes agrícolas ha desencadenado el brote de algunas plagas agrícolas, y esto se ha relacionado con la disminución de las poblaciones de especies predatorias de dichas plagas, que actúan como agentes de control biológico natural.

Una evaluación hecha por la Organización Internacional de Control Biológico sobre los impactos de los plaguicidas en especies benéficas reportó que el 80% de una población de escarabajos predadores de plagas vegetales murieron cuando fueron expuestos a glifosato. Por otro lado, el 50% de la población de avispas parasitoides, mariquitas, crisopos y ácaros predadores también murieron luego de la exposición a glifosato (Hassan *et al.* 1988).

En un estudio hecho en Carolina del Norte, Estados Unidos se registró una baja poblacional de escarabajos carabus tratados con glifosato. La población no se recuperó después de 28 días (Brust, 1990). Resultados similares se encontraron en un estudio hecho en pastos marginales en el Reino Unido tratados con Roundup, donde se encontró una reducción en las poblaciones del escarabajo carabus (Asteraki *et al.*, 1992)

Hay bibliografía científica que da cuenta de la afectación de poblaciones de insectos benéficos debido a cambios en su hábitat.

Este es el caso de un estudio hecho durante tres años consecutivos en Estados Unidos, en un área forestal que 4-5 años antes había sido clareada con Roundup, y luego plantada con plántulas de abeto. Los investigadores encontraron que poblaciones de insectos herbívoros y de invertebrados del suelo habían disminuido significativamente y no se recuperaron durante el período del estudio. Los autores concluyeron que la caída poblacional se debió fundamentalmente al cambio del hábitat de estos organismos (Santillo *et al.*, 1989).

Asteraki *et al.*, (1992) reportan una disminución en el número de arañas en pastos marginales en suelos tratados con glifosato, posiblemente porque se habían destruido las plantas donde ellas hacían sus telas. Al-Daikh *et al.* (2015) también reportaron alteraciones en las comunidades de artrópodos del suelo en sistemas agrícolas de tomate no orgánico en Egipto.

Efecto en polinizadores

El aumento de la mortalidad de las colonias de abejas es un problema global que nos preocupa a todos. Se han identificado varios factores que inciden en el “declive de los polinizadores”, pero es un fenómeno que aún no es completamente comprendido. Se dice que el herbicida glifosato (el pesticida más utilizado en la historia, cuyo uso ha aumentado con el crecimiento exponencial de los cultivos transgénicos resistentes a los herbicidas), es inocuo para los animales, incluidas las abejas.

El glifosato, interfiere en el ciclo del ácido chiquímico, afecta el ciclo metabólico de amino-ácidos aromáticos que solo se encuentra en las plantas, algunos hongos y las

bacterias. A pesar de ello, el glifosato afecta también a otros organismos, pues tiene impactos en los microorganismos beneficiosos; en este caso, los que habitan en el sistema digestivo de las abejas.

Sin embargo, un estudio reciente llevado a cabo por Erick Motta y sus colegas de la Universidad de Texas en Austin,³⁹ encontró que la exposición a las abejas al glifosato, altera la micro - biota intestinal de las abejas y aumenta la susceptibilidad a las infecciones mortales ocasionada por patógenos. Esto se debe a que algunas de las bacterias beneficiosas claves, son atacadas por el glifosato.

Las abejas dependen de una micro - biota intestinal especializada, la que intervienen en su crecimiento y les brinda defensa contra los patógenos. El estudio muestra que hay una reducción significativa tanto la abundancia relativa como la absoluta de la micro - biota. Las obreras jóvenes expuestas al glifosato mueren más frecuentemente cuando son expuestas a bacterias comunes. Por lo tanto, la exposición al glifosato puede ser perjudicial a su micro - biota beneficiosa, afectando potencialmente su salud y su efectividad como polinizadores.

El estudio muestra que se puede establecer una asociación entre el incremento en el uso del glifosato, con la disminución global de las abejas, junto con la pérdida de hábitat (debido al incremento de los monocultivos). Otras investigaciones han demostrado que las larvas de abejas melíferas crecieron más lentamente y murieron más a menudo cuando estuvieron expuestas al glifosato.

En 2015 un equipo de investigación evaluó el efecto de la exposición de abejas adultas al herbicida, en los mismos niveles encontrados en el campo, y encontraron que el glifosato perjudica las capacidades cognitivas necesarias para un retorno exitoso a la colmena y su capacidad de navegación (Balbueba *et al*, 2015).

Para otros, como Matt Sharlow, del grupo de conservación de Buglife, el principal impacto del glifosato está relacionado con “la destrucción de las flores silvestres de las que dependen”. Por su parte, el profesor Dave Goulson, de la Universidad de Sussex, dijo que “es más probable que la aplicación de pesticidas a escala de paisaje haya sido negativa, cuyas consecuencias son a menudo difíciles de predecir⁴⁰.

Impacto del Glifosato en vertebrados

De acuerdo a (2018), en una revisión de los efectos tóxicos del glifosato en animales, ellos señalan que se ha reportado efectos adversos del glifosato y sus coadyuvantes en anélidos (lombrices de tierra), artrópodos (crustáceos e insectos), moluscos, equinodermos, peces, reptiles, anfibios, aves y mamíferos (incluyendo el ser humano). Los efectos toxicológicos observados incluyen genotoxicidad, citotoxicidad, aberración nuclear, alteración hormonal, aberraciones cromosómicas y daño al ADN.

³⁹ Motta *et al* (2018)

⁴⁰ Citado en The Guardian (2018)

En el caso de los anfibios, su declive global en la diversidad es uno de los problemas ambientales graves, con una multitud de posibles causas. Existe evidencia de que los pesticidas pueden desempeñar un papel importante en este fenómeno pues, la contaminación de las aguas por este herbicida es extraordinariamente letal para los anfibios.

Se han hecho varios trabajos investigativos para analizar los efectos de este herbicida en Anuros. Uno de los estudios más importantes hechos con anfibios fue llevado a cabo por el Dr. Andrés Carrasco y su equipo de investigación de la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, donde se mostró los efectos teratogénicos del herbicida (Paganelli *et al*, 2010).

En Argentina, el Centro de Estudios del Medio Ambiente de la Universidad de La Plata, encontró que en larvas de ranas neotropicales sus hígados sufrían efectos adversos en presencia de glifosato, a las mismas concentraciones que las que hay en el medio ambiente (Bach *et al*, 2018).

En la Universidad de Pittsburgh, se estudió a comunidades de tres especies de renacuajos de estanques norteamericanos que contenían diferentes tipos de suelo (que pueden absorber el pesticida) y se les aplicó Roundup. Después de tres semanas, Roundup mató al 96–100% de los renacuajos (independientemente de la presencia del suelo). Luego se expuso tres especies de anuros juveniles a un exceso de rociado directo de Roundup en contenedores de laboratorio. Después de un día, Roundup mató al 68-86% de los anfibios juveniles. Estos resultados sugieren que el Roundup, un compuesto diseñado para matar plantas, puede causar daño también a los anfibios (Relyea, 2005).

En investigaciones conducidas en Australia, la formulación Roundup demostró una seria toxicidad en anfibios (Mann y Bidwell, 2004). Resultados similares se han encontrado en Canadá, donde el glifosato provocó parálisis y hasta la muerte de especies nativas de anfibios (Bruce, 1996)

En cuanto a los reptiles, Sparling *et al* (2006), encontraron efectos adversos en embriones de la tortuga *Trachemys scripta elegans* cuando estos fueron expuestos a glifosato y sus surfactantes a distintas concentraciones.

En estudios de campo, poblaciones de pequeños mamíferos se han visto afectadas a causa del glifosato, por muerte de vegetación que ellos o sus presas utilizan para alimentarse o protegerse.

En el caso de animales herbívoros, la ingestión de vegetación contaminada con glifosato también puede generar efectos negativos. Adicionalmente, los animales pueden entrar en contacto con este herbicida en un ecosistema que ha sido fumigado a través de contacto por la piel, los ojos o por inhalación.

La aplicación de glifosato en ecosistemas boscosos puede cambiar las tasas reproductivas de algunas especies, privilegiando a aquellas que se adaptan a hábitats intervenidos como pastizales, y desplazando a especies que viven en bosques menos intervenidos. Santillo y sus colaboradores (1989) encontraron una menor presencia de pequeños mamíferos en la zona norte-central de Maine, en terrenos “tratados” con glifosato.

Richard y colaboradores (2005) concluyeron que el glifosato actúa como un disruptor de la actividad de la citocromo P450 aromatasasa en mamíferos, a unas concentraciones 100 veces más bajas que las que se recomiendan para su uso agrícola. El citocromo juega un papel importante en el metabolismo de sustancia ajenas al organismo, como son fármacos, plaguicidas, etc. muchos de los cuales pueden tener efectos cancerígenos.

Encontraron además que en concentraciones menores a las recomendadas para uso agrícola, el Roundup puede inducir a problemas reproductivos.

Estudios hechos en espermatozoides de conejo (Yousef, et al 1995) encontraron que el tratamiento con el herbicida glifosato redujo el peso corporal, el libido, el volumen de la eyaculación, la concentración y volumen del esperma; se registró además un alto porcentaje de espermatozoides anormales y muertos.

Conclusiones

El glifosato forma parte del paquete tecnológico de los cultivos transgénicos porque la mayor parte de los esfuerzos se han puesto en crear variedades transgénicas resistentes a este herbicida.

Aunque fue presentado como uno de los herbicidas menos tóxicos, su uso intensivo ha puesto de manifiesto su altísima toxicidad, la misma que afecta a una gran gama de organismos que van desde las poblaciones microbiológicas del suelo que juegan roles cruciales en el ciclo de nutrientes, especies de plantas distintas a las que se quiere controlar (las mal llamadas malezas que no son otra cosa que uno de los fracasos de la revolución verde), hasta animales polinizadores, anfibios, aves y seres humanos.

Altera además varios ciclos vitales, incluyendo el ciclo del nitrógeno y del fósforo. Por producir efectos genotóxicos, vulnera también procesos evolutivos de los seres vivos.

Es indudable que el glifosato vulnera los derechos de la naturaleza, pues es fabricado para eliminar parte de sus componentes.

Es necesario añadir que debido a la emergencia de las llamadas súper-malezas, están ya en el mercado nuevas variedades transgénicas resistentes a otros herbicidas como el 2,4D, dicamba, glufosinato de amonio. Cada uno de estos tienen su rango de toxicidad. Cada uno de ellos tiene su propia forma de vulnerar los derechos de la naturaleza.

CAPÍTULO CINCO

EL MODELO AGRÍCOLA DE LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS

Los cultivos transgénicos se han expandido de manera exponencial desde que fueron liberados por primera vez en 1996. Aunque son pocos los países donde hay plantaciones comerciales a gran escala, ocupan las mejores tierras agrícolas de Norteamérica, el Cono Sur y otras regiones del mundo.

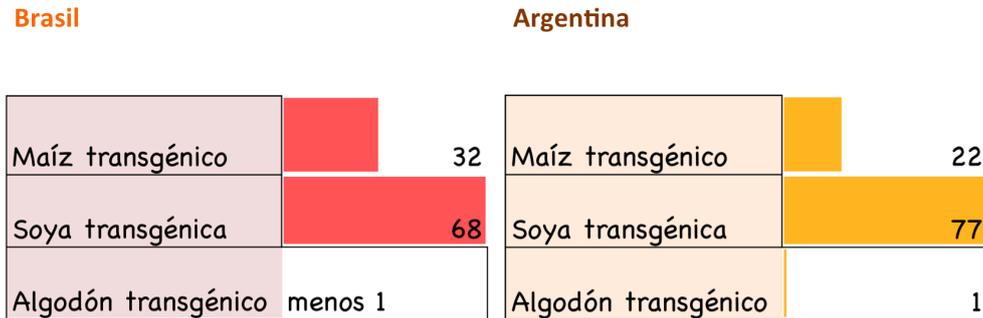


Esto ha significado, por un lado, el desplazamiento de cultivos dedicados a la alimentación humana, pero también la destrucción de ecosistemas naturales. En el caso del Cono Sur, la soya transgénica ha desplazado ecosistemas naturales tales como la Pampa Húmeda, el Chaco, Mata Atlántica, Yungas, Pantanal, Catinga y bosques tropicales, poniendo a algunos de estos biomas en peligro de extinción.

La pregunta que surge es si esta sustitución de hábitats se debe a un proceso de monocultivización, en la que cualquier especie hubiera tenido un comportamiento similar, o si hay algo intrínseco de los cultivos transgénicos.

En el análisis de cómo los transgénicos vulneran los derechos de la naturaleza, es importante incluir al modelo en el que se sustenta la expansión de estos cultivos. Es importante señalar en primer lugar que, a pesar de las promesas que presentó la industria biotecnológica y los promotores de esta tecnología, de que los cultivos genéticamente modificados iban a solucionar casi todos los problemas agronómicos y de hambre mundial, en realidad, al momento hay muy pocos cultivos que han logrado posicionarse comercialmente.

Transgénicos cultivados en Brasil y Argentina y % del total



Fuente ISAAA (2017)

Figura No. 15

Los cultivos transgénicos existen, a pesar de todos los problemas que generan, porque forman parte de un paquete tecnológico que promueve el uso intensivo de herbicidas. Es así como, los cultivos transgénicos más generalizado son los resistentes a herbicidas, ya sea sólo o en combinación con otros caracteres transgénicos (como son las toxinas Bt), o en combinación con varios herbicidas.

Se han intentando desarrollar muchos tipos de transgénicos En 2017 sólo había

Cultivo	Porcentaje	Área (Millones de Ha)
SOYA	50%	94,1
MAÍZ	31	59,7
ALGODÓN	13	24,1
CANOLA	5	10,2
ALFALFA	< 1	1,2
REMOLACHA AZUCARERA	< 1	< 1
PAPAYA	< 1	< 1
OTROS	< 1	< 1

RASGO GM	PORCENTAJE DEL TOTAL	ÁREA TOTAL SEMBRADA (MILLONES DE HA)
Tolerancia a herbicidas	88,7	47
Tolerancia a herbicidas + Bt	77,7	41
Resistencia a insectos (Bt)	23,2	12
Resistencia a virus y otros	menos de 1	menos de 1
Total con resistencia a herbicidas	166,4	88
TOTAL	189,8	100

Millones de hectáreas

Fuente: ISAAA (2017)

Figura No. 16

En el caso del maíz transgénico, aunque en un principio el mayor porcentaje del área cultivada era con maíz Bt, luego se fueron adoptando semillas que combinaban las dos características (resistencia a herbicidas y resistencia a insectos).

PRODUCCIÓN DE MAÍZ TRANSGÉNICO			
TIPO	% DEL TOTAL DE MAÍZ TRANSGÉNICO SEMBRADO		
	ESTADOS UNIDOS	BRASIL	ARGENTINA
Resistencia a herbicidas (especialmente glifosato)	3,30%	20,90%	7%
Resistencia a insectos (Bt)	13	4,2	10
Genes apilados (resistencia a herbicidas + Bt)	83,7	74,9	83
Total de maíz transgénico del total sembrado	93,4	88,9	97

Figura No. 17

El paquete tecnológico de los cultivos transgénicos con resistencia a herbicidas inauguraron un nuevo modelo de hacer agricultura, porque la fumigación aérea se facilita, se desplaza mano de obra, y permite una profundización de la mecanización del trabajo agrícola, ayudado por información geo referenciada cuando se hace agricultura de precisión

El modelo transgénico está conformado por:

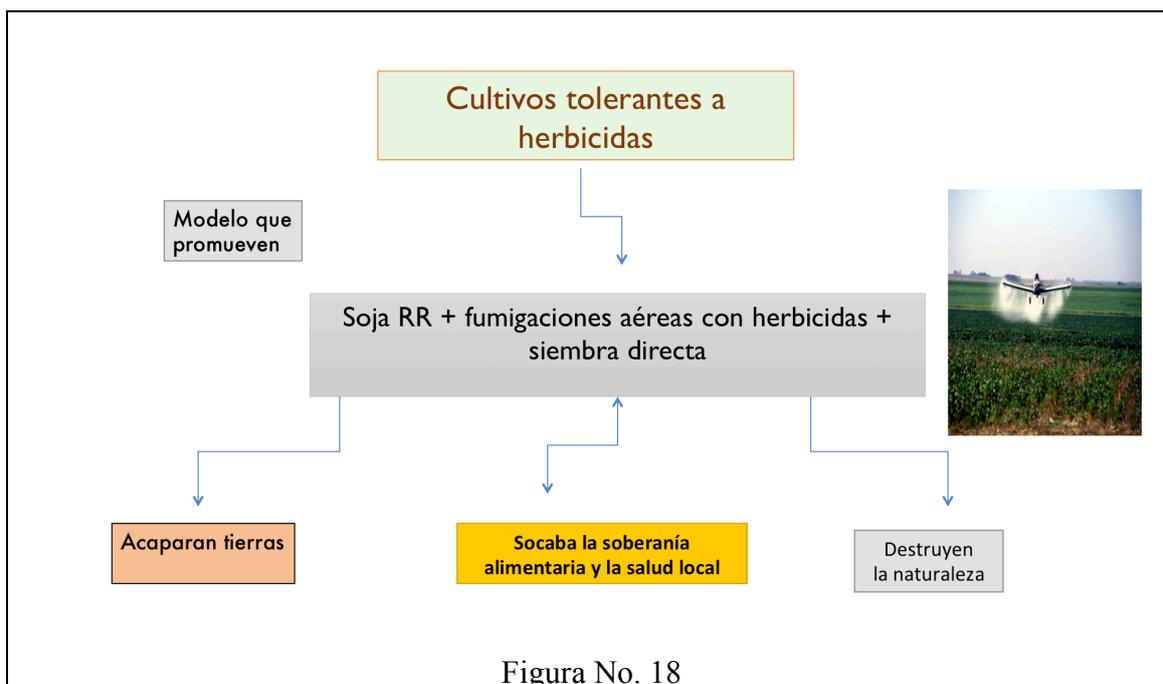


Figura No. 18

Los cultivos resistentes a herbicidas permite al gran productor hacer un manejo eficiente y barato de las llamadas “malezas” que surgen debido al modelo de monocultivos. El hecho de que una planta sea resistente a un veneno que podría matarle, facilita sobre todo

las fumigaciones aéreas. Pero las fumigaciones aéreas se justifican solo si hay extensas zonas cultivadas con plantas que no vayan a morir durante las aspersiones aéreas. Por eso es que el modelo con el que se siembra soya y maíz transgénicos es acaparador de tierras.

Es por eso que se puede afirmar que, el modelo de producción transgénica promueve la deforestación, y por lo tanto atenta contra el derecho a la existencia de ecosistemas naturales.

La región más afectada por este modelo es América Latina.

América Latina tiene las reservas de tierra más grandes del planeta para la agricultura y tuvo la expansión agrícola más rápida durante inicios del siglo XXI. Una gran parte de la expansión agrícola reemplazó a los bosques y otros ecosistemas naturales, como lo demuestran muchos estudios locales y regionales.

Un equipo de geógrafos de varias universidades del Continente, realizaron un estudio de estas transformaciones, compararon imágenes satelitales del período 2001–2013 para caracterizar la expansión de tierras de cultivo y pastizales en múltiples escalas en América Latina (Graeseer *et al*, 2015).

Ellos encontraron que durante ese período el 17% de las nuevas tierras de cultivo y el 57% de las nuevas praderas reemplazaron a los bosques en toda América Latina. La expansión de las tierras de cultivo fue menor (44,27 millones de hectáreas) que la de los pastizales (96,9 millones de hectáreas). En el año 2013, el 44% del total del área cultivada eran tierras recién incorporadas a cultivo.

La mayor parte de la expansión de las tierras de cultivo fue hacia pastizales dentro de las regiones agrícolas centrales de Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay y Uruguay, que es donde se está expandiendo la soya transgénica.

Los autores siguieron que la agricultura regional está fuertemente influenciada por la globalización. De hecho, ellos encontraron una disminución general en la expansión agrícola después de 2007, coincidiendo con la desaceleración económica mundial.

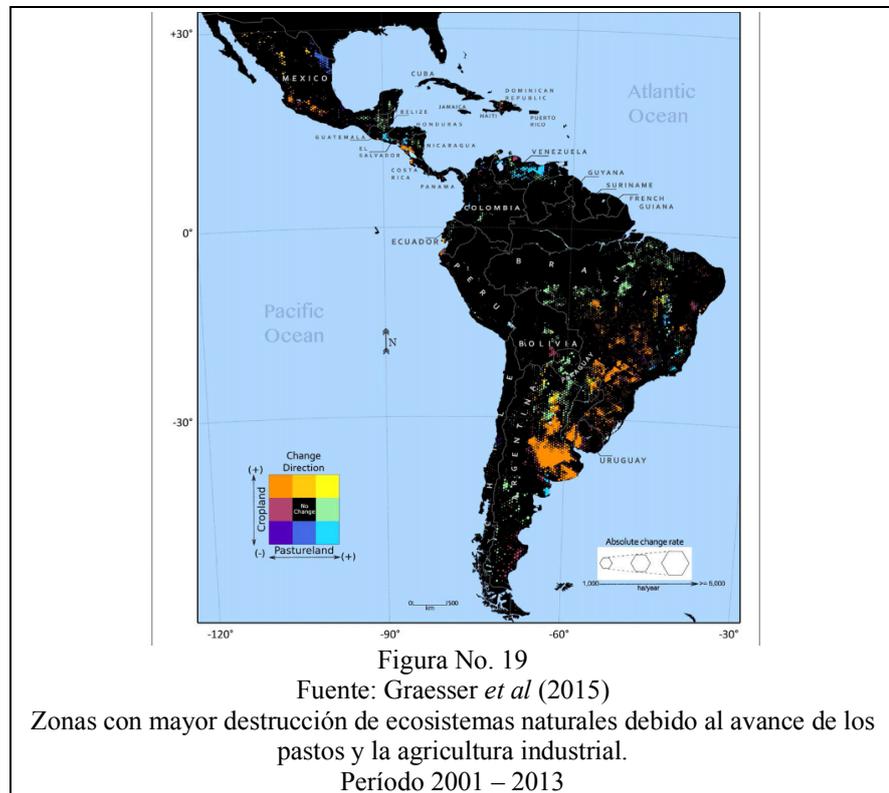
En el año 2018 se presentaron los resultados de otra evaluación hecha a partir de información recogida durante 24 años, sobre las transformaciones que han tenido lugar en la Sudamérica sub-andina, mediante la estimación de la cobertura de cultivos y bosques y la detección de parcelas de campos de cultivos individuales utilizando imágenes de *Landsat* en intervalos de 5 años.

Ellos encontraron que entre 1990 y 2014, la transformación de ecosistemas naturales, fue impulsada por la agricultura a gran escala. Las zonas con mayor deforestación, coinciden con aquellas donde ha habido mayor expansión de los monocultivos. Los autores señalan que la soya (transgénica) ha sido la principal fuerza desencadenante de deforestación.

Los principales causantes de deforestación fueron campos agrícolas mayores a 50 hectáreas, cuya contribución aumentó de 32% a 48% (+ 16% de aumento), mientras que la contribución a la deforestación de campos más pequeños (de menos de 20 ha) disminuyó del 36% al 26%. Este cambio hacia la agricultura a gran escala que,

reemplazando zonas forestadas en toda la región, tiene implicaciones importantes para la conservación de la biodiversidad (Graesser *et al*, 2018).

En el siguiente mapa se grafica las transformaciones en ecosistemas naturales que han tenido lugar en América Latina. La zona en anaranjado coincide con la expansión de la soya transgénica.



Los ecosistemas más afectados son: el Cerrado, el Chaco Seco, la Mata Atlántica del Alto Paraná. El bosque estacional del Mato Grosso.

Los autores concluyen que la agricultura en las zonas sub-andinias de América del Sur, donde proliferan los cultivos comerciales a gran escala, como la soya, ha transformado la dinámica del uso de la tierra en la frontera forestal.

El metabolismo social de la producción de transgénicos

Hay ocupación territorial también para la producción de semillas transgénicas, con sus respectivas plantas de reacondicionamiento de semillas.

En Argentina, la empresa Monsanto produce sus semillas de maíz transgénico, para su distribución en el resto de la región, en la Provincia de San Luis, Valle de Conlara, una zona rodeada por montañas, con clima muy estable y predecible, con escasas lluvias, viento adecuado, un ambiente controlado, y suficiente agua subterránea de calidad. El Estado de San Luis ofrece disposición de energía eléctrica suficiente para que puedan funcionar las enormes bombas de extracción que proveen agua a inmensos sistemas de riego por pivot de 600 a 900 metros de extensión. Para la producción de este maíz, se hacen aplicaciones de agrotóxicos aéreos mucho más intensamente que los cultivos de maíz para alimentación animal (REDUAS, 2015).

Hay muchos lugares como este en distintos territorios, incluyendo en Chile, país dedicado por el agronegocio a la producción de semillas transgénicas, por las condiciones ideales de aislamiento, acompañada por buenos servicios eléctricos de infraestructura, lo que asegura una producción de semillas con “pureza varietal”.

Luego están las plantas de acondicionamiento de semillas. Un caso paradigmático fue la lucha llevada a cabo por la población de Malvinas Argentinas, que logró frenar la construcción de la planta. A continuación, se hace un resumen elaborados a partir del Estudio Ambiental de la propia empresa sobre los impactos potenciales generados por esta planta si es que se hubiera llegado a construir. En esta planta se iba a acondicionar las semillas transgénicas de maíz para ser usadas en la región.

Planta de acondicionamiento de semillas de maíz transgénico en Las Malvinas Argentinas

Ahí se habían identificado que el proceso de acondicionamiento de semillas comprende varias etapas, cada una con sus respectivos impactos: en las primeras etapas de la operación, que incluyen principalmente el ingreso de camiones con las espigas; el movimiento del material y el eschalado, que incluye una fase de almacenaje y despacho como subproducto de la chala, y material de descarte). Durante estas operaciones pueden desprenderse partículas orgánicas contaminadas con residuos de plaguicidas. Además de ser potencialmente transportables por viento, pueden generar depósitos secundarios, disponibles para sucesivos episodios de distribución eólica. Las sustancias involucradas dependerán de los cócteles de plaguicidas que se hayan aplicado en las partidas de espigas ingresantes.

Grupo de riesgos 2. La fuente es principalmente la operación de secado de las espigas, habida cuenta que durante la primera etapa de operaciones funcionaría una secadora con 24 celdas, con una capacidad de almacenamiento de 100 toneladas por celda. En esta parte del proceso, las espigas son expuestas a 38 °C durante 72 horas, para bajar el % de humedad. Se podrían procesar 2.400 toneladas cada 72 horas en 5 secadoras. Los posibles impactos implica que los residuos de plaguicidas contenidos en las semillas, podrían ser dispersados en forma gaseosa y como contaminante de micro partículas durante las operaciones de secado.

Grupo de riesgos 3. Corresponde a las actividades de desgranado y la posible liberación de micro partículas contaminadas con residuos de plaguicidas. Las fuentes de posible emisión derivadas del desgranado son tres: fase de despacho de maíz a granel; fase de despacho como subproducto de marlo, granza y maíz de descarte (ambas "salen" del sistema) y fase de flujo principal (desgranado a almacenaje. Con la planta operando a su máxima capacidad se generarían 12.740 ton/ de desechos de maíz transgénico contaminado, que se usa como fertilizantes.

Grupo de riesgos 4. Comprende el pre-curado de semillas con insecticidas y su almacenamiento en silos, lo que generará también residuos tóxicos. Durante esta etapa de los procesos puede haber descarga de plaguicidas al ambiente y descarga de partículas contaminadas con plaguicidas. En una primera etapa operarían 40 silos con una capacidad

de almacenamiento de 137 toneladas por silo. A mayor capacidad de proceso, mayor uso de plaguicidas y mayor impacto negativo potencial.

Grupo de riesgos 5: Silos cerrados). En el caso de silos estancos pueden sufrir deflagración y detonación. Se considera deflagración cuando la velocidad de combustión o la velocidad de la llama es relativamente lenta (1 m/s), y detonación cuando la velocidad de la llama es muy elevada (2000 a 3000 m/s).

Grupo de riesgos 6. Corresponde a las etapas de clasificación y curado. Durante el curado de las semillas se le incorporan a las semillas insecticidas, funguicidas y un colorante para que sean fácilmente identificables y no se destinen a alimentación, ni animal ni humana. Como resultado del proceso de impregnación de plaguicidas y marcador (colorante), que incluyen como fases principales la impregnación y la homogeneización en tambor giratorio, se generan complejos de riesgo (por ejemplo el residuo denominado "polvo rojo" muy tóxico=.

Grupo de riesgos 7. Almacenamiento de los productos plaguicidas a ser usados en las etapas de pre-curado y almacenamiento en silo, y de curado de semillas. Se utilizarían 350.000 litros de plaguicidas al año, correspondiente a un 20% de las operaciones previstas. Esto implica que el uso de plaguicidas podría trepar a 1.750.000 litros/año de plaguicidas (100% de las operaciones previstas).

Grupo de riesgos 8. Corresponde al total de residuos peligrosos, que involucran contenido de plaguicidas y residuos de plaguicidas.

Fuente: Raúl Montenegro (s/f). El caso Malvinas Argentinas. potenciales impactos sanitarios y ambientales.

Producción y distribución de agrotóxicos

Parte del metabolismo social de la producción de cultivos transgénicos, están las plantas de producción de insumos agrícolas, como agrotóxicos y fertilizantes para servir a los cultivos transgénicos, muchas de las cuales se han instalado por ejemplo en países del Cono sur para abaratar los costos, con enormes impactos en la naturaleza y las comunidades que viven en las zonas colindantes

A esto se suma las plantas de distribución de los insumos agrícolas como agrotóxicos y fertilizantes para servir a los cultivos transgénicos.

Cuando se analiza el ciclo de vida de los agrotóxicos relacionados con los cultivos transgénicos, por ejemplo, el glifosato, se puede apreciar que sus efectos van mucho más allá de los graves impactos producidos por su uso como herbicida. Uno de los principales componentes del glifosato proviene del subsuelo: el fósforo elemental, que es extraído de la roca de fosfato enterrada bajo tierra⁴¹.

⁴¹ Elmore B. (2017). Monsanto's Superfund Secret. Dissent.

https://www.dissentmagazine.org/online_articles/monsanto-roundup-production-superfund-sites-radioactive

Monsanto ha extraído su fosfato de las minas en el sureste de Idaho, cerca de la ciudad de Soda Springs, una pequeña comunidad de aproximadamente 3.000 personas, donde la compañía ha operado desde la década de 1950. A continuación se presenta el testimonio del reporte de Dissent, Bart Elmont, que visitó el sitio donde se ha estado extrayendo el mineral desde la década de 1950.

Fui a visitar el verano pasado, y lo que encontré fue sorprendente. Me quedé justo al otro lado de una cerca de alambre de púas, alrededor de las nueve de la noche, y observé cómo los camiones arrojaban montones de desechos radiactivos rojos fundidos sobre el borde de lo que se está convirtiendo rápidamente en una montaña de desechos. Este vertido ocurrió cada quince minutos, iluminando el cielo nocturno. Los caballos pastaban en un campo a unas pocas docenas de metros de distancia, brillando en los rayos radiantes provenientes de los lodos de lava. Hileras de cebada, para la cerveza Budweiser, ondeaban en la distancia.

Como toda actividad minera, cuando se refina el fosfato se refina en fósforo elemental, deja un subproducto radioactivo, la escoria. La instalación de fósforo elemental de Monsanto, situada a pocos kilómetros de sus minas de fosfato, produce cantidades prodigiosas de escoria que contiene concentraciones elevadas de material radiactivo. Durante años, esta escoria en realidad se vendió a la ciudad de Soda Springs y al cercano Pocatello, y la gente construyó sus casas y carreteras. En la década de 1980, sin embargo, la EPA realizó un estudio radiológico de la comunidad y advirtió que los ciudadanos podrían correr el riesgo de una exposición elevada a los rayos gamma. El estudio concluyó que si el negocio continuaba como de costumbre en Soda Springs, dentro de cuatro décadas "la probabilidad de contraer cáncer debido a la exposición de escoria de fósforo elemental" sería "una posibilidad entre 2.500 en Pocatello y una posibilidad en 700 en Soda Springs".

La EPA, que enfrenta una gran presión por parte de Monsanto y miembros de la comunidad que temían lo que este estudio podría significar para los valores de las propiedades, más tarde aceptó enviar el informe para su revisión y, en última instancia, recomendó el inicio de nuevos estudios. Mientras tanto, el alcalde de Soda Springs trabajó con el concejo municipal para prohibir la venta adicional de escoria en la comunidad. Hablé con un científico radiológico que estudió el problema de las escorias en el área durante muchos años, y me aseguró que los propietarios de viviendas en el sureste de Idaho están expuestos solo a pequeños niveles de radiación gamma que no deberían ser dañinos, actualmente la posición oficial de la EPA.

Sin embargo, un sitio web creado por el Grupo de trabajo técnico sobre escorias de fósforo, una coalición que incluye a Monsanto, funcionarios de la EPA, agentes locales de salud pública y otros asuntos relacionados con la minería, ofrece asesoramiento a los habitantes de Idaho, incluida la sugerencia útil de que si se encuentra una contaminación peligrosa, los propietarios de viviendas podrían Considerare "pasar menos tiempo en el sótano".

La planta de Monsanto Soda Springs es actualmente un sitio activo de Superfund, que logró la designación de un sitio de desechos tóxicos en 1990. Los contaminantes nocivos en el lugar incluyen cadmio, selenio y radio radiactivo, todos los cuales pueden causar graves problemas de salud en humanos en altas concentraciones.

La enorme cantidad de fertilizantes usados en los monocultivos también provienen de la minería.

Construcción de infraestructura para el agronegocio

En torno a la expansión de los monocultivos, se ha desarrollado una compleja red de infraestructura que comprende carreteras, líneas férreas, puertos marítimos, puertos fluviales, gigantescos silos, plantas de transformación del grano en sus productos derivados... lo que ha significado graves impactos ambientales en todos los ecosistemas afectados, incluyendo ríos, bosques, praderas.

A lo largo de los principales ríos que drenan las zonas soyeras, se han construido una gran cantidad de silos donde las empresas acopian la producción proveniente de los millones de hectáreas plantadas con granos transgénicos. Las cuatro empresas que controlan el comercio mundial de granos, tienen redes de silos en los principales países productores. En el caso del Cono Sur, estos se extienden en sitios estratégicos Brasil, Paraguay, Bolivia, Uruguay y Argentina.

El sistema de elevadores de las empresas son parte esencial de su red de procesamiento global de los granos transgénicos. Desde ahí se conecta las cosechas de las áreas de producción, hasta sus plantas de procesamiento en Sud América, Europa y el Asia.

Se han instalado además decenas de plantas de procesamiento, donde el grano de maíz o soya transgénica se transforma en aceite y balanceados.

Para facilitar la exportación fluvial se han promovido hidrovías y puertos fluviales (controlado por empresas transnacionales), lo que significa el drenaje de los ríos y la afectación de las cuencas hidrográficas, y se niega el acceso a las comunidades al río. Desde que se adoptó la soya transgénica en el Cono Sur, la exportación de la soya es vía fluvial se incrementó casi en un 220%. En Brasil se han construido miles de kilómetros de hidrovía, lo que podría afectar 5 millones de bosques y a territorios indígenas, reservas extractivistas, tierras campesinas, etc.

Las empresas controlan además el transporte ferroviario. Son dueños de cientos de vagones en los países productores, y han promovido la ampliación de nuevas líneas.

Se ha construido además puertos marítimos. El transporte marítimo está a cargo de las mismas empresas que controlan los puertos fluviales, pues ellas son importadoras y exportadoras de granos (desde el Cono Sur a Europa, por ejemplo). Estas mismas empresas tienen además puertos en los principales países importadores, por ejemplo, en países Europeos y China.

Mi testimonio sobre una visita al puerto de Rosario

Aprovechando nuestra presencia en el Rosario, hicimos una gira por el enclave portuario que cubre las poblaciones de San Lorenzo, Timbues y Puerto San Martín, por donde sale el 60% de la soja argentina (y parte de la producción paraguaya, uruguaya y boliviana).

La actividad en las vías y carreteras es sorprendente. No hay un minuto en el que no pasa de ida o de vuelta, camiones, y más camiones. Un poblador dice que por esos poblados

circulan diariamente un promedio de dos mil camiones diarios cargando cada uno 30 toneladas de soja, los que son depositados en los grandes buques que entran por el río Paraná.

Me sorprendió conocer los silos de la Asociación de Cooperativas Argentinas (ACA) en la ciudad de San Lorenzo, (80.000 habitantes) donde se almacenan cerca de 240.000 toneladas de soja.

Los silos están en medio del poblado y nos cuentan que hace tiempo se produjo una explosión en el silo que mató a varias personas y daños en las viviendas. Los inmensos silos se unen con su puerto privado. Y es que cada gran empresa tiene su puerto, haciendo del río Paraná, un territorio ocupado.

En sus playas hay puertos, silos y fábricas procesadoras de las grandes cerealeras como Bunge, Cargill, ADM, Vicentín. Asociado al negocio de la soja está la planta de biodiesel de Patagonia Energía y una planta de producción de fertilizantes, para devolver de manera sintética a la tierra los nutrientes extraídos por la soja.

Hay además refinerías de YPF, Petrobras y otras empresas petroleras. Por el río entran y salen enormes buques petroleros que sacan el crudo que viene del sur del país. Hay también barcos que ingresan con gas importado, y junto al puerto, miles de camiones de distintas regiones del país, así como de Paraguay para llevar el gas que mueve la economía regional.

Se atravesó el famoso Tren Azul, que dicen son 4 trenes diarios, que transporta los minerales que salen de La Alumbra en Catamarca, principalmente oro y cobre (pero tal vez también otros minerales) a su puerto en Puerto General San Martín, en la rivera del río Paraná.

Y mientras pasábamos por las zonas agrícolas, ahora bajo barbecho químico, es decir rociadas con herbicidas más tóxicos que el mismo glifosato, pudimos apreciar el color mortecino del suelo: ahí no crece nada y esa es la intención.

¡Tanta agresión a la tierra a nombre del progreso!

Elizabeth Bravo – 8 de julio 2013

Este reordenamiento territorial está relacionado con el IIRSA (Iniciativa de Integración de la Infraestructura Regional Sudamericana), que incluye una serie de mega obras de infraestructura que incluyen carreteras, túneles, puertos, hidroeléctricas, hidrovías, con el fin de “facilitar, intensificar, agilizar y encadenar la extracción de los bienes naturales, rediseñando la geografía del continente e imponiendo una territorialidad neoliberal total en función del saqueo capitalista” (OLCA, 2017).

Conclusiones

Los cultivos transgénicos, especialmente los que son resistentes a herbicidas (que son la mayoría), se han expandido en las últimas dos décadas y han desplazado ecosistemas naturales poniéndoles en peligro de extinción a biomas como la Mata Atlántica o

humedales de importancia regional como el Pantanal, cuya afectación va más allá de las zonas de cultivo, pues incluye todo el proceso metabólico que empieza con la producción de semillas y sus plantas de reacondicionamiento (como es el caso de la planta en Malvinas Argentinas, que fue parada por la población), las áreas destinadas a la producción, almacenamiento y distribución de agrotóxicos, a lo que se suma todos los espacios territoriales ocupados para el acopio, transformación y transporte del grano y sus productos derivados, lo que ha devenido en un reordenamiento territorial de las zonas de mayor producción de los cultivos transgénicos, con los consecuentes vulneraciones a los derechos de la naturaleza

Pero como hemos analizado en otras secciones de este documento, se viene una nueva generación de cultivos biotecnológicos, que posibilitarán la colonización de ecosistemas donde antes no era posible hacer monocultivos a gran escala, lo que implicará mayores vulneraciones a la naturaleza.

Por ejemplo, hay mucho trabajo en cultivos resistentes a las sequías. Inclusive se están sembrados en África y Estados Unidos. De ser exitosos, estos cultivos se desplazarán en tierras de alta vulnerabilidad climática y ambientales, afectando ecosistemas que han logrado un delicado equilibrio.

Las posibilidades de destrucción de los biomas naturales son tan grandes, como lo son las fronteras que logren atravesar estas nuevas biotecnologías.

REFERENCIAS

- Abdelghani A.A. (1997). Toxicity evaluation of single and chemical mixtures of Roundup, Garlon-3A, 2,4-D, and Syndets surfactant to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), bluegill sunfish (*Lepomis microchirus*), and crawfish (*Procambarus* spp.). *Environmental toxicology and water quality* 12 (3) p. 237-243.
- Abdel-Malle A.Y. Adbel-Kaden, M.I.A. Shomikier A.M.A. (1994). Effect of glyphosate on fungal population, respiration and the decay of some organic matter in Egyptian soil. *Microbiological Research* 149: 69 – 73.
- Agapito-Tenfen S. Wikmark O. (2015). Current status of emerging technologies for plant breeding: Biosafety and knowledge gaps of site directed nucleases and oligonucleotide-directed mutagenesis Genøk. Biosafety Report 02/2015.
- AL-Daikh E.B. *et al* (2016). Effect of glyphosate herbicide on the behavior of soil arthropods in non-organic tomato system. *Adv. Agric. Biol.* 5(1). 14-19.
- Aparicio V.C. *et al* (2013). Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* 93(9):1866-73.
- Arregui M.C. *et al* (2004). Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest Manag* 60(2):163-6.
- Asteraki E.J. Hanks C.B. y Clements R.O. (1992). The impact of chemical removal of the hedge-base flora on the community structure of carabid beetles (COL., Carabidae) and spiders (Araneae) of the field and hedge bottom. *Journal of Applied Entomology* 113: 398 – 406.
- Austin A.P. *et al* (1991). Impact of an organophosphate herbicide (glyphosate) on periphyton communities developed in experimental streams. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 47: 29-35.
- Axelsson E.P. *et al* (2011). Leaf litter from insectresistant transgenic trees causes changes in aquatic insect community composition. *J Appl Ecol*, 48, 1472-1479.
- Bach N.C. Merino D. Marinoa J. Natalea G. Somozab G. (2018). Effects of glyphosate and its commercial formulation, Roundup®Ultramax, on liver histology of tadpoles of the neotropical frog, *Leptodactylus latrans*(amphibia). *Chemosphere* 202 (2018) 289 - 297.
- Balbueba M.S. Tison L. Hahn M.L. Greggers U. Menzel R. Walter M. Farina W.M. (2015). Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology* 2015 218: 2799-2805; doi:10.1242/jeb.117291
- Bawa, K.S. y Hadley M. (1990). *Reproductive Ecology of Tropical Forest Plants*. Man and Biosphere Series. Volumen 7. UNESCO.

Bell F. W.R.A. Lautenschlager R. G. Wagner D. G. Pitt, J.W. Hawkins, and Ride K.R. (1997). Motor-manual, mechanical, and herbicide release affect early successional vegetation in northwestern Ontario. *Forestry Chronicle* 73.

Beltrano J. et al (2013). Changes in the accumulation of shikimic acid in mycorrhized *Capsicum annuum* L. grown with application of glyphosate and phosphorus. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 25:2. <http://dx.doi.org/10.1590/S2197-00252013000200005>

Benbrook C. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ Sci Eur* (2016) 28:3 DOI 10.1186/s12302-016-0070-0

Bezbaruah B. Saikia N. y Bora T. (1995). Effect of pesticidas on most probable number of soil microbes from tea (*Camellia sinensis*) plantations and uncultivated land enumerated in enrichment media. *India J. of Agric. Sciences* 65(8): 578 – 583.

Blevins T. et al., 2011. Massive production of small RNAs from a non-coding region of Cauliflower mosaic virus in plant defense and viral counter-defense. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jul;39(12):5003-14. doi: 10.1093/nar/gkr119. Epub 2011 Mar 4.

Boutin et al, (2014). Herbicide impact on non-target plant reproduction: What are the toxicological and ecological implications?. *Environmental Pollution* 185: 295-306

Brust B.E. (1990). Direct and indirect effects of four herbicides on the activity of carabid beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pestic. Sci.* 30: 309-320.

Castro *et al.* (2007). Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *J. Env. Sci. Helath B* 42: 883 – 886.

Charles D. (2018). A Drifting Weedkiller Puts Prized Trees At Risk. *The Salt*. <https://www.npr.org/sections/thesalt/2018/09/27/651262491/a-drifting-weedkiller-puts-prized-trees-at-risk>

Cherni A.E. et al, (2015). Effect of glyphosate on enzymatic activities, Rhizobiaceae and total bacterial communities in an agricultural Tunisian soil. *Water Air Soil Pollut.*, 226 (2015), p. 2263

Cox C. (1995). Glyphosate. 2. Human Exposure and ecological effects. *Journal of pesticide reform: a publication of the Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides.* 15 (4): 14-20.

Cullinan C. (2011). ¿Tienen los humanos legitimación para negarle derechos a la naturaleza? En Espinosa C, Pérez C. *Los Derechos de la Naturalezay la Naturaleza de sus Derechos:* 281 – 328. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos.

D`Anieri P. Leslie D.M. y McCormack M.L. (1987). Small mammals in glyphosate treated clearcuts in Northern Maine. *Can Field Nat.* 101 (4): 547 – 550.

Demetrio P.M. (2012). Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana. Tesis doctoral. Universidad de la Plata.

Demonte L.D. Nicolás Michlig N. Gaggiotti M. Adamb C.G. Beldoménico H.R. y Repetti M. R. (2018). Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate in dairy farm water from Argentina using a simplified UHPLC-MS/MS method. *Science of the Total Environment* 645 (2018) 34–43.

Devos Y. *et al.* (2012). Resistance evolution to the first generation of genetically modified Diabrotica-active Bt-maize events by western corn rootworm: management and monitoring considerations. *Transgenic Res.*

Didhám, RK. (1997). La Influencia de los Efectos del Borde y de la Fragmentación de Bosques en los Invertebrados de la Hojarasca en Amazonia Central.

DICIT (s/f). Lluís Montoliu: “Ha surgido un problema con CRISPR, pero es un acicate para descubrir nuevas proteínas para la edición de genes”. <http://www.dicyt.com/noticias/lluis-montoliu-ha-surgido-un-problema-con-crispr-pero-es-un-acicate-para-descubrir-nuevas-proteinas-para-la-edicion-de-genes>

Dos Santo J. Siqueira J.O. Souza Moreira M.F. (2006). Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. *Pesq. Agropec. bras.* 41(2): 285 – 291.

Dunfield K.E. y Germida J. (2001). Diversity of bacterial communities in the rhizosphere and root interior of field-grown genetically modified *Brassica napus*. *Federation of European Microbiology Societies. Microbiology Ecology* 38: 1-9

Douville M. Gagné F. André C. Blaise C. (2009). Occurrence of the transgenic corn *cry1Ab* gene in freshwater mussels (*Elliptio complanata*) near corn fields: evidence of exposure by bacterial ingestion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02>.

Druille *et al* (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application *Appl. Soil Ecol.*, 72: 143-149

Eberbach P.L. y Douglas L.A. (1983). Persistence of glyphosate in sandy loam. *Soil Biol. Biochem.* 15(4).

Elmore B. (2017). Monsanto's Superfund Secret. *Dissent.* https://www.dissentmagazine.org/online_articles/monsanto-roundup-production-superfund-sites-radioactive

Elmore RW. *et al.* (2001). Glyphosate-Resistant Soybean Cultivar Yields Compared with Sister Lines. *Agronomy Journal.* Vol. 93: 412 – 417

Etchegoyen M.A. *et al* (2017). Occurrence and fate of pesticides in the Argentine stretch of the Paraguay-Paraná basin. *Environ Monit Assess* (2017) 189:63. doi:10.1007/s10661-017-5773-1

- Evans D.D. y Batty M.J. (1986). Effects of high dietary concentrations of glyphosate. (Roundup) on a species of bird, marsupial and rodent indigenous to Australia. *Environmental Toxicology and Chemistry* 5: 399-401
- Fang J. Peng N. Zongying G. Xiaochun G. Yu-Qi F. y Bao-Rong L. (2018). Overexpressing Exogenous 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase (EPSPS) Genes Increases Fecundity and Auxin Content of Transgenic Arabidopsis Plants. *Front. Plant Sci.*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00233>
- 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. *Nat Toxins*, 6, 219-233.
- Fu Y- Foden J.A. Khayter C. Maeder M.L. Reyon D. Joung JK. Sander J.D. (2013) High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nat Biotechnol* 31:822–826
- Gill J.P.K. et al (2017). Glyphosate toxicity for animals. *Environmental Chemistry Letters*. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0689-0>
- Gordon B. (2007). Manganese Nutrition of Glyphosate-Resistant and Conventional Soybeans. *Better Crop*. 91:4
- Graesser J. Ramankutty N. Coomes O.T. (2018). Increasing expansion of large-scale crop production onto deforested land in sub-Andean South America
- Graesser J. *et al* (2015) Cropland/pastureland dynamics and the slowdown of deforestation in Latin America *Environ. Res. Lett.* doi:10.1088/1748-9326/10/3/034017.
- Grønsberg I., Nordgård L., Fenton Hegge B.K., M. Nielsen K.M., Bardocz S., Pusztai A., Traavik T., 2011. Uptake and Organ Distribution of Feed Introduced Plasmid ADN in Growing or Pregnant Rats. *Food and Nutrition Sciences*. 2: 377-386.
- Groupement d'Intérêt Scientifique Biotechnologies Vertes (GIS BV) & Animation Scientifique Biotechnologies Végétales (2017). Epigenetics in Plant Breeding. Position Paper.
- Grupo ETC. (2013). El carro delante del caballo. Semillas, suelos y campesinos. ¿Quién controla los insumos agrícolas? Informe 2013.
- Hassan S.A. *et al* (1988). Results of the Fourth Joint Pesticida Testing Programme carried out by the Internacional Organization for Biological Control / WPRS – Working Group “Pesticides and Beneficial Organisms”. *Journal of Applied Entomology* 105: 321 – 329.
- Helander M. *et al* (2018). Glyphosate decreases mycorrhizal colonization and affects plant-soil feedback. *Science of The Total Environment* 642: 285-29.
- Hesman S. (2010). Central dogma of genetics maybe not so central. *Science News*. [//www.sciencenews.org/article/central-dogma-genetics-maybe-not-so-central](http://www.sciencenews.org/article/central-dogma-genetics-maybe-not-so-central).

Ho M.W. (1998). Genetic Engineering, Dream or Nightmare?: The Brave New World of Bad Science and Big Business. Gatebooks. Bath UK

Hoppeler H. (2015). Epigenetics in comparative physiology. *Journal of Experimental Biology*. 218: 6 doi: 10.1242/jeb.117754

Hutchinson G.I. (1995). Nitrogen Cycle Interactions with Global Change Processes. In Niertenberg, W.I. (Ed) *Encyclopedia of Environmental Biology*. Volume 2: 583-587, San Diego, Academic Press.

ISAAA (2018). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits. Accumulate in 22 Years. ISAAA Brief 53.

Jensen, L., Koppe, W. & Verreth, J. A. J. (2008). Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different temperatures. *Aquac Nutr*, 14, 324–330.

Joensen L. y Semino S. (2004). OMGs en Argentina ¿a qué precio? Estudio de Caso del Impacto de la Soja Modificada Genéticamente del Grupo de Reflexión Rural de Argentina. Econexus & The GAIA Foundation. Octubre 2004.

Johal GS. Rahe, JE. (1984). Effect of soilborne plant-pathogenic fungi on the herbicidal action of glyphosate on bean seedlings. *Phytopathology* 74(8): 950-955.

Jupe F. Rivkin AC. Todd P. Michael T.O., et al. (2019). *PLOS Genetics*. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007819>

Kapos V. Wandelli E. Camargo J.L. y Ganade G. (1997). Cambios Relacionados al Efecto del Borde en el Ambiente y en las Respuestas de Plantas, como consecuencia de la Fragmentación del Bosque en la Amazonia Central.

Kaur Gill et al (2018). Glyphosate toxicity for animals. Review. *Environmental Chemistry Letters*. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0689-0>

King A.C. *et al.* (2001). Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate – tolerant soybean in response to glyphosate applications. *Agron. J* 93: 179 - 186

Koskella, J. & Stotzky, G. (1997). Microbial utilization of free and claybound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl Environ Microbiol*, 63, 3561-3568.

Kremer R.J. y Donald P. (2003). Herbicide impact on *Fusarium* spp. And soybean cyst nematode in glyphosate tolerant soybean. *American Society of Agronomy*, (573) 882-2716.

Kremer R.J. Means NE. (2009). Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *European J. Agronomy* 31: 153 - 161

Krysko-Lupicka y Sudol. (2008). Interactions between glyphosate and autochthonous soil fungi surviving in aqueous solution of glyphosate. *Chemosphere* 71: 2601 – 2605.

Kunik, T., Tzfira, T., Kapulnik, Y., Gafni, Y., Dingwall, C., & Citovsky, V. (2001) Genetic transformation of HeLa cells by Agrobacterium. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 1871-1876.

Lacadena J.R. (2017). Genome Editing: Science and Ethics. Revista Iberoamericana de Bioética No. 3:1-14.

Lajmanovich, R.C. *et al* (2017). The Ecological Risks Of Bt Crops In Amphibians: Possible Effects Of Insect-Resistant Intacta Rr2 Pro® Soybean Diets On *Leptodactylus Gracilis* Tadpoles. En: Robert Bélanger (Ed). *Bacillus thuringiensis*. Biological Characteristics, Toxicological Effects And Environmental Implications

Lajmanovich, R.C. *et al* (2015). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in aqueous suspension on the South American common frog *Leptodactylus latrans* (Anura: Leptodactylidae) tadpoles. Environ Res, 136, 205-212.

Latham J. (2016). El bolígrafo rojo de Dios, y los tres mitos de la precisión de la edición génica. Independent Science News. Lunes, 25 Abril.

Liu L. Parekh-Olmedo, H. & Kmiec E.B. (2003). The development and regulation of gene repair. Nat Rev Genet. 4, 679-89.

Lupi L. *et al*. (2015). Occurrence of glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina. Sci Total Environ. 536:687-94.

MacKinnon, D.S.Y. Freedman, B. (1993). Effects of silvicultural use of the herbicide glyphosate on breeding birds of regenerating clearcuts in Nova Scotia, Canada. Journal of Applied Ecology 30: 395-406.

Martins A. (2018). CRISPR/Cas9: las serias advertencias de unos científicos sobre los peligros de la técnica que revolucionó la genética. BBC Mundo. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-44861150>

Mekwatanakarn P. y Silvassithamparam K. (1987). Effect of certain herbicides on soil microbial populations and their influence on saprophytic growth in soil and pathogenicity of take-all fungus. Biol. Fertil. Soils 5: 75 - 180.

Motta E. Raymanna K. y Morana N.A. (2018). Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. PNAS. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1803880115

Negrete E (2014). Metilación de ADN dirigida por ARN (ARNmi, ARNi y horquilla RNA para metilación de ADN). CONACYT. Seminarios en bioseguridad y biotecnología de OGMs.

Neskovic N.K. Oleksic V. Elezovic I. Karan V. y Budimir M. (1996). Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L. Bull. Environm. Contam Toxicol. 5: 259 – 302.

Neve P. (2018). Gene drive systems: do they have a place in agriculture weed management? Pest Management Science.

OLCA (2017). IIRSA, La Infraestructura de la devastación.
<http://olca.cl/articulo/nota.php?id=107030>

Pardo Piñón (2017). Descripción del sistema CRISPR-Cas y diseño de sgRNAs (single guide RNAs) para edición de ADN genómico en levaduras. Trabajo de Grado de Biología. Universidad de La Coruña.

Paganelli A. *et al* (2010). Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem. Res. Toxicol.*, 2010, 23 (10), pp 1586–1595.

Podevin N. and du Jardin P. (2012) Possible consequences of the overlap between the CaMV 35S promoter regions in plant transformation vectors used and the viral gene VI in transgenic plants. *GM Crops and Food* 3: 1-5.

Ready K.N. and Zablotowicz R.M. (2003). Glyphosate – resistant soybean response to various salts of glyphosate and glyphosate accumulation in soybean nodules. *Weed Sci.* 51: 496 -502

REDUAS (2015). El santuario transgénico de Monsanto en San Luis, Argentina.
http://www.biodiversidadla.org/Documentos/El_santuario_transgenico_de_Monsanto_en_San_Luis_Argentina

Regal P. 1998. A brief History of Biotechnology Risk Debates and Policies in the United States. An occasional paper of The Edmond Institute.

Richards C. Verhoeven K. y Bossdorf O. (2012). “Evolutionary Significance of Epigenetic Variation”. *Plant Genome Diversity* 1: 257 – 274.

Richie D.C. Harestad, A.S. y Archibald R. (1987). Glyphosate treatment and deer mice in clearcut and forest. *Northwest Sci.* 61(3), 199 - 202.

Richmond M. (2018). Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species. *Journal of Environmental Studies and Science*. <https://doi.org/10.1007/s13412-018-0517-2>

Rosi-Marshall E.J. *et al.* (2007). Toxins in transgenic crop by products may affect headwater stream ecosystems. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 104, 16204–16208.

Sánchez J.A. *et al* (2019). Histological evaluation of vital organs of the livebearer *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842) exposed to glyphosate: A comparative analysis of Roundup® formulations. *Chemosphere* 217: 914e924

Santillo D.J. *et al.* (1989). Response of songbirds to glyphosate-induced habitat changes on clearcuts. *J. Wildl. Manage.* 53:64-71.

Santos A. y Flores M. (1995). Effects of glyphosate on nitrogen-fixing of free living heterotrophic bacteria. *Letters in Applied Microbiology* 20(6): 349 – 352.

- Sargent R.G. Kim, S. & Gruenert, D.C. (2011). Oligo/polynucleotide-based gene modification: strategies and therapeutic potential. *Oligonucleotides* 21: 55–75.
- Saxena D. Flores S. y Stotzky G. (2002). Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(1): 111-120.
- Saxena D. Flores S. y Stotzky G. (2002). Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 34(1): 111-120.
- Schouten, H.J., Krens, F.A. and Jacobsen, E. (2006) Do Cisgenic Plants Warrant Less Stringent Oversight? *Nature Biotechnology*, 24, 753. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt0706-753>
- Seralini G.E. et. al. Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to a Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide. *Food and Chemical Toxicology* 53(2013):476 - 483.
- Shrestha *et al* (2018). Effects of field history on resistance to Bt maize by western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae)- *Plos One* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200156>
- Smiley R.W. (1992). Influence of glyphosate on *Rhizoctonia* root rot, growth, and yield of barley. *Plant Dis*, 76: 937 – 942.
- Sparling DW1, Matson C, Bickham J, Doelling-Brown P. (2006). Toxicity of glyphosate as Glypro and LI700 to red-eared slider (*trachemys scripta elegans*) embryos and early hatchlings. *Environ Toxicol Chem.* 25(10):2768-74.
- Springett J.A. y Gray RAJ. (1992). Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture. *Soil. Biol. Biochem*, 24 (12):1739-1744.
- Starsser B. (2003). EMBO and the early days of European molecular biology research. *EMBO Rep.* 2003 Jun; 4(6): 540–543. doi: 10.1038/sj.embor.embor879
- Steinbrecher R. (2015). Genetic Engineering in Plants and the “New Breeding Techniques (NBTs)” Inherent risks and the need to regulate. *Econexus Breifing*.
- Tank, J. L. *et al* (2010). Occurrence of maize detritus and a transgenic insecticidal protein (Cry1Ab) within the stream network of an agricultural landscape. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 107, 17645-17650.
- Tapp, H. & Stotzky, G. (1998). Persistence of the insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biol. Biochem.* 30:471-476
- Tate T.M. Spurlock J.O. y Christian F.A. (1997). Effect of Glyphosate on the Development of *Pseudosuccinea columella* snail. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33: 286 – 289.

Urán, P.A. *et al.* (2009). Time-related changes of the intestinal morphology of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., at two different soybean meal inclusion levels. *J Fish Dis*, 32, 733-744.

Vázquez-Padrón R.I., *et al.* (2000). Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp kurstaki HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Commun*, 271, 54-58.

Waddington C. H. (1956). The genetic assimilation of the bithorax phenotype. *Evolution* 10, 1-13. doi:10.2307/2406091

Wang, Y. M. *et al* (2013). Determination of the movement and persistence of Cry1Ab/1Ac protein released from Bt transgenic rice under field and hydroponic conditions. *Soil Biol Biochem*, 58, 107-114.

Weber M. & Nentwig W. (2006). Impact of Bt corn on the diplopod *Allajulus latestriatus*. *Pedobiologia*, 50, 357-368.

Weiber A. (2011). Estrategias de monitoreo del algodón genéticamente modificado (*Gosypium hirsutum*). Ponencia presentada en el Primer Taller de Monitoreo de OGM. INECC.

Windels P. Taverniers I. Depicker A. Van Bockstaele E. De Loose M. (2001) Characterisation of the Roundup Ready soybean insert. *Eur. Food Res. Technol.* 213: 107-112.

Zablotowicz R.M. y Reddy K.N. (2004). Impact of Glyphosate on the Bradyrhizobium japonicum Symbiosis with Glyphosate-Resistant Transgenic Soybean: A Mini review. *J. Environ. Qual.* 33:825–831.

Zwahlen C. Hilbeck A. Gugerli P. & Nentwig W. (2003). Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Mol Ecol*, 12, 765-775.