VEGETALES TRANSGÉNICOS: MITOS Y REALIDADES DESDE UNA PERSPECTIVA TÉCNICA

TRANSGENIC PLANTS: MYTHS AND REALITIES FROM A TECHNICAL POINT OF VIEW

Francisco José Fernández Perrino

Laboratorio de Ingeniería Genética de Microorganismos Industriales, Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Ave. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa. 09340, México D.F. Tel: 01 (555) 804-6438 y 804-6453, Fax: 01(555) 804-4712. Correo electrónico: fjfp@xanum.uam.mx
** Autor para correspondencia*

RESUMEN

En la presente revisión se describen los aspectos técnicos relativos a la construcción de un vegetal modificado genéticamente, desde su transformación (con las diferentes técnicas empleadas) hasta la regeneración del mismo. Del mismo modo, se discute, de un modo crítico y desde un punto de vista técnico, algunos de los mitos que habitualmente se manejan en relación con los riesgos y beneficios de dicha tecnología.

Palabras clave: Plantas transgénicas, percepción pública, transformación genética, biotecnología.

SUMMARY

In the present review the technical aspects about a genetically modified plants and their construction (with the different used techniques) from transformation to regeneration of the plant, are discussed. It is also discussed, from a critical and technical point of view, some of the myths frequently associated with the risks and benefits about the use of the above mentioned technology.

Index words: Transegnic plants, public opinion, genetic transformation, biotechnology.

INTRODUCCIÓN

La biotecnología está empezando a ser un tema cotidiano en nuestras vidas y, al contrario de lo que algunas personas piensan, no se trata de una moda pasajera sino de una forma diferente de entender los procesos productivos. No es tan nueva; los antiguos sumerios y babilonios consumían cerveza seis mil años antes de Cristo y los egipcios produjeron pan dos mil años más tarde, por citar dos ejemplos de procesos actualmente tipificados como "Biotecnología".

La agricultura, actividad económicamente muy importante, se ha visto también afectada en un alto grado por este tipo de técnicas, que van desde el cultivo clonal de individuos *in vitro* hasta la modificación de alguna de las características del vegetal. En este último caso, la aplicación de las técnicas de biología molecular permite la introducción de genes capaces de codificar para nuevas funciones en el organismo (resistencia a plagas o herbicidas, resistencia al frío o a la sequía, por ejemplo) y la modificación del patrón de expresión de los propios genes vegetales, tanto en el tiempo como en el espacio. La integración de genes de procedencia exógena (es decir, genes que proceden de un organismo distinto al que lo recibe) define a un organismo transgénico, mientras que la segunda opción describe a un organismo modificado genéticamente. Este último término es, por tanto, más amplio e incluye todo tipo de modificación (incluida la transgénesis): todo organismo transgénico es un organismo modificado genéticamente, mientras que no todo organismo modificado genéticamente es forzosamente transgénico (Fernández, 2002).

La primera parte de esta revisión se centra fundamentalmente en la forma en la que se puede obtener un vegetal transgénico. En la segunda parte se utiliza esta información para analizar, desde un punto de vista técnico, algunas inquietudes de cierta parte de la opinión pública que acompañan a los vegetales (y alimentos) transgénicos.

TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE TRANSGÉNICOS

La información genética adicional se puede introducir en los vegetales fundamentalmente por cuatro tipos de técnicas: transformación de protoplastos, transformación por

Recibido: 11 de Mayo del 2005.
Aceptado: 24 de Febrero del 2006.

electroporación, transformación por "biobombardeo" y transformación mediada por *Agrobacterium*.

Transformación de protoplastos. Consiste en la eliminación de la pared celular de los vegetales, rica en celulosa, mediante el uso de enzimas (o, de forma más complicada, por procedimientos mecánicos). Se originan así los llamados protoplastos, células desnudas que presentan menores impedimentos a la introducción del ADN exógeno y que, al ser individuales, constituyen una aproximación más confiable al momento de pretender conseguir organismos no quiméricos (es decir, organismos que presenten a la vez células transformadas y no transformadas). Los protoplastos pueden incluso fusionarse y generar híbridos entre especies sexualmente no compatibles.

Los protoplastos pueden obtenerse a partir de líneas celulares de callos iniciados desde embriones inmaduros, inflorescencias inmaduras, mesocótilos, la base de hojas inmaduras o anteras (Maheshwari *et al.*, 1995). Dichos protoplastos pueden ser transformados directamente con ADN exógeno (reacción normalmente facilitada por la adición de polietilenglicol en el tampón), o bien mediante incubación con cepas específicas de la bacteria *Agrobacterium*, mediante electroporación o por tratamiento con liposomas (Shillito, 1999). No existe una división muy estricta entre éste y los siguientes sistemas de transformación que se mencionan posteriormente, y el uso de protocolos que combinan varias de estas técnicas es una práctica habitual.

Transformación por electroporación. Consiste en la aplicación de pulsos eléctricos de elevado voltaje en tiempos muy pequeños. De este modo se crean poros temporales en las barreras externas de las células receptoras y se permite la entrada del ADN extraño. Sin embargo, debido a su baja reproducibilidad, no es una técnica muy empleada.

Transformación por "biobombardeo". Se basa en el bombardeo de la célula vegetal con partículas de tungsteno u oro recubiertas de ADN (lo que se conoce como biolística, una combinación lingüística de biología y balística). La aceleración de las partículas puede producirse por medio de pólvora, gases como el CO_2 o el helio, o por medio de una descarga eléctrica. Este es un método que se puede considerar universal, debido a que puede utilizarse con éxito en prácticamente todos los organismos vivos. En plantas se han conseguido grandes mejoras en la producción de transformantes al aplicar algunas variaciones al protocolo general: por ejemplo, pre-cultivo de los explantes a transformar, uso de pantallas deflectoras, utilización de microproyectiles (Randolph-Anderson *et al.*, 1995) o someter el tejido a transformar a un pretratamiento osmótico, ya sea por secado parcial en una campana de flujo laminar o mediante cultivo en un medio que contenga un agente osmótico (Finer *et al.*, 1999).

Los vegetales obtenidos por esta técnica presentan a menudo patrones complejos de integración de los transgenes, y es difícil que se den eventos individuales de integración. Además, la técnica parece ser especialmente complicada cuando se pretende integrar genes de un gran tamaño, debido a mecanismos de rotura del ADN. Algunos de estos problemas pueden ser evitados con una modificación de la técnica, llamada "agrolística" (Hansen *et al.*, 1997), que permite la generación de eventos de integración sencillos, incluso después de que se apliquen las técnicas de biolística o de transformación de protoplastos. La potencia de la biolística es tal que permite la integración del ADN exógeno no solamente en el núcleo de la célula, sino que también puede incorporarlo en organelos subcelulares como el cloroplasto. Más adelante se tratará por separado este aspecto, por ser de interés.

Transformación mediada por *Agrobacterium*. A pesar de la universalidad de la técnica recién descrita, la opción más utilizada hasta el momento para la introducción en las plantas del material genético adicional es la mediada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Esta bacteria infecta determinados tipos de plantas, especialmente dicotiledóneas, a través de lesiones físicas (cortes y roturas, por ejemplo) en las mismas. Como resultado, se forman tumores denominados agallas en corona. Parte del ADN de esta bacteria (el llamado T-DNA), contenido en moléculas extracromosómicas llamadas plásmidos, se integra en los cromosomas vegetales y dirige el metabolismo de la planta en beneficio de la bacteria. El mecanismo de integración de este ADN está dirigido por un conjunto de genes bacterianos (los llamados genes *vir*, por virulencia), cuya expresión se induce en presencia de compuestos fenólicos liberados por las propias plantas en crecimiento, como la acetosiringona (Hansen y Chilton, 1999).

En el laboratorio se puede sustituir parte del ADN bacteriano transferido (T-DNA) por un gen o una secuencia de ADN de interés, al conservarse sólo los elementos que van a permitir la infección y eliminar cualquier otra secuencia adicional o innecesaria. En la mayoría de los casos, las plantas transgénicas obtenidas de este modo presentan eventos de integración sencilla en el cromosoma. Este método de transformación es, con toda seguridad, el más económico y no requiere de equipos sofisticados ni de protocolos complejos, y es tan utilizado en la actualidad que los otros métodos se encuentran prácticamente restringidos a aquellos vegetales en los que la infección con *Agrobacterium* no es eficiente. La desventaja inicial de que *Agrobacterium* infecta de preferencia dicotiledóneas pero no es muy eficaz en monocotiledóneas, ha sido superada con la

adaptación y creación de protocolos específicos para estas últimas (Smith y Hood, 1995).

Así, pueden destacarse los éxitos obtenidos en la transformación de embriones inmaduros y callos embriogénicos de trigo - *Triticum* sp. (Cheng *et al.*, 1997), embriones inmaduros de cebada –*Hordeum* sp.- (Tingay *et al.*, 1997), maíz –*Zea mays* L.- (Ishida *et al.*, 1996) y caña de azúcar -*Saccharum officinarum* L.- (Arencibia *et al.*, 1998). Lo mismo ocurre con otros vegetales tradicionalmente resistentes al sistema de transformación mediado por *Agrobacterium*. Así, la formación de barreras necróticas con las que algunas plantas como la vid (*Vitis vinifera* L.) se defienden de la penetración de la bacteria ha sido superada mediante la adición a la mezcla de antioxidantes como la polivinilpirrolidona o el ditiotreitol. Del mismo modo, la forma en la que el álamo (*Populus alba* L.) y el chopo (*Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray) combaten la infección, mediante necrosis del ápice de los tallos, puede evitarse tamponando el medio con ácido 2-(N-morfolino) etanosulfónico y con gluconato de calcio.

Métodos alternativos de transformación. Existen otros métodos alternativos de transformación de plantas no muy usados por encontrarse en etapas iniciales de desarrollo o por ser poco fiables. Entre ellos, podríamos destacar la introducción de ADN por medio de fibras de carburo de celulosa (Thompson *et al.*, 1995), aunque tales fibras tienen un alto potencial carcinogénico; la microinyección de ADN en zigotos (Leduc *et al.*, 1996), una técnica mucho más utilizada en animales; o la toma de ADN desnudo mediada por microhaces de láser (Hoffman, 1996).

Transformación de cloroplastos. Una variante de la biolística, que cada vez está adquiriendo una mayor relevancia, permite la integración del ADN exógeno no solamente en el núcleo de la célula, sino también en organelos como los cloroplastos. Debido a que el genoma de estas estructuras subcelulares se encuentra presente en alto número de copias (aproximadamente 60 a 100 copias de ADN por organelo), y que el número de cloroplastos por célula vegetal es también muy elevado (una célula de una hoja puede tener hasta 50 cloroplastos), la transformación de cloroplastos permite la introducción de miles de copias del ADN extraño por célula vegetal y genera cantidades muy elevadas de la proteína correspondiente, al llegar a constituir hasta 46 % de las proteínas solubles totales (De Cosa *et al.*, 2001).

MECANISMOS DE SELECCIÓN

Sea cual sea el mecanismo de transformación utilizado, es necesario disponer de un mecanismo de selección para distinguir entre los organismos en los que se ha integrado la información adicional (sólo una muy pequeña proporción del total) y aquéllos en los que no ha habido tal integración. Una vez que la selección se ha completado, el marcador de selección generalmente no presenta ventajas adicionales para la planta o utilidad para el investigador.

La selección directa, en la que la misma característica que se va a mejorar puede utilizarse como criterio de selección, es la más recomendable porque no introduce características adicionales en el vegetal. En otros casos, no queda más remedio que incorporar marcadores de selección indirectos (por ejemplo, resistencia a antibióticos o proteínas fluorescentes), que pueden presentar complicaciones adicionales desde el punto de vista del control de riesgos.

Los marcadores de selección pueden dividirse en varias categorías, dependiendo de si confieren selección positiva (marcadores que permiten el desarrollo de las plantas transformadas) o negativa (éstos, por el contrario, causan la muerte de las células transformadas) o de si esa selección es condicional (requiere) o no condicional (no requiere) la presencia de sustratos externos (Babwah y Wadell, 2000; Miki y McHugh, 2004). Los primeros marcadores desarrollados, y los más peligrosos, fueron los de tipo positivo y condicionales de la presencia de antibióticos, herbicidas o compuestos químicos, normalmente tóxicos para las plantas sin transformar. De las publicaciones científicas relacionadas con este tema en el año 2002, 90 % utilizaban de hecho solamente tres de estos sistemas: resistencia a kanamicina, resistencia a higromicina (ambos antibióticos) y resistencia al herbicida fosfinotricina (Miki y McHugh, 2004).

Más recientemente se han desarrollado marcadores de selección positivos condicionales en presencia de agentes no tóxicos que pueden ser sustratos para el crecimiento o que inducen crecimiento y diferenciación de las células o tejidos transformados. Este es el caso, por ejemplo, del gen *man*A que codifica para la fosfomanosa isomerasa. La D-manosa es un monosacárido no tóxico, que no puede ser utilizado como fuente de carbono por la planta a no ser que se le introduzca este gen, de origen bacteriano (Joersbo *et al.*, 1998). Otros ejemplos de este tipo son los genes *xyl*A y *uid*A, que codifican respectivamente para la xilosa isomerasa y β-glucuronidasa y permiten el crecimiento sobre D-xilosa y benziladenil-N-3-glucurónido, respectivamente (Joersbo y Okkels, 1996; Haldrup *et al.*, 1998a y 1998b).

Las estrategias más novedosas incorporan marcadores de selección positivos que además son no condicionales de la presencia de sustratos externos, pero que alteran los procesos fisiológicos que gobiernan el desarrollo de las plantas (un mecanismo observable fenotípicamente).

Ejemplos de este tipo son los genes *ipt* y *pga*22 que codifican para isopenteniltransferasas y modifican el nivel endógeno de fitohormonas, y así promueven el desarrollo de tallos (Endo *et al.*, 2001; Zuo *et al.*, 2002a). Otros ejemplos de este tipo son los genes *rol*, *ESR1* y *CKI1* (Ebinuma *et al.*, 2001; Banno y Chua, 2002; Zuo *et al.*, 2002b). Algunos de los efectos generados por este tipo de marcadores, aunque no tóxicos, tampoco son recomendables para el desarrollo vegetal, sobre todo si se tiene en cuenta que el fenotipo de selección sólo es necesario hasta que ésta concluye. Por este motivo, estos genes normalmente se introducen junto con promotores de naturaleza inducible, que permiten la expresión del gen sólo en determinadas condiciones.

REGENERACIÓN DE LAS PLANTAS

Por último, e independientemente de la técnica de integración elegida, se requiere una etapa de cultivo de tejidos para recuperar un individuo transgénico real. Ello requiere explotar la totipotencialidad de las células vegetales para conseguir regenerar un organismo completo. Las plantas pueden ser regeneradas a partir de los cultivos celulares fundamentalmente por dos métodos: embriogénesis somática y organogénesis, ambos controlados por el balance de fitohormonas y otros factores añadidos al medio de cultivo (Hansen y Wright, 1999).

En los últimos tiempos hay especial interés en desarrollar métodos de transformación de plantas que excluyan estos últimos pasos, de forma que se acelere el proceso en conjunto. Estos métodos se denominan transformación *in planta*, debido a que los transgenes se introducen en el vegetal intacto, en forma de ADN desnudo o mediante el uso de *Agrobacterium*. El estado de la planta óptimo para la transformación varía con las distintas especies, aunque en general se prefiere el momento de la formación del zigoto (el óvulo es en ese momento capaz de aceptar un genoma completo, procedente del gameto masculino, por lo que se supone que también puede ser el momento óptimo para que se acepte el transgén). Los primeros experimentos muestran una eficiencia de transformación baja, aunque interesante (Zhou *et al.*, 1983; Langridge *et al.*, 1992; Bechtold *et al.*, 1993; Clough y Bent, 1998). De la misma forma, se ha conseguido crear plantas transgénicas después de transformar el polen por técnicas de biolística (Touraev *et al.*, 1997). Los resultados, aunque aún poco reproducibles y eficientes, representan un interesante abordaje.

BENEFICIOS FRENTE A RIESGOS

Con base en la información analizada hasta este momento, en este apartado se pretende analizar en forma crítica algunos de los controvertidos aspectos que rodean a los vegetales (y en general a los alimentos) modificados genéticamente.

Los posibles beneficios de este tipo de organismos modificados abarcan una gran cantidad de aspectos relacionados con los procesos agrícolas actuales. Por citar algunos, se podrían destacar: mejorar el aspecto (una ventaja importante tanto para el productor como para el consumidor, algo realmente no muy habitual en este tipo de productos), resistir a herbicidas y plagas, mejorar la calidad nutritiva de los vegetales, resistir condiciones nutricionales, meteorológicas o espaciales adversas (Hirsch y Sussman, 1999; Apse y Blumwald, 2002; Chen y Murata, 2002) y ser utilizados para la producción de vacunas y otros compuestos de interés (las plantas actuarían, según esto, como auténticas "fábricas vegetales"). Estas "vacunas comestibles" resultan muy interesantes, al no requerir del mantenimiento de una cadena de frío para conservar su funcionalidad, como ocurre con las vacunas convencionales. Los cloroplastos son un compartimento celular ideal para el desarrollo de vacunas de este tipo (Daniell *et al.*, 2001a), sobre todo una vez que se ha conseguido transformar con base en esta técnica a cultivos comestibles como la papa (*Solanum tuberosum* L.) y el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Sidorov *et al.*, 1999; Ruf *et al.*, 2001).

Los riesgos potenciales existen, aunque algunos de ellos no son ajenos a los alimentos vegetales obtenidos actualmente por medio de mejoramiento genético clásico (el trigo ruso, por ejemplo, es una mezcla de centeno y trigo silvestres, una fusión con resultados *a priori* impredecibles) o, incluso, a los alimentos "tradicionales". Un alimento tan corriente como la papa, de ser descubierto hoy en día, no sería autorizado con los cánones regulatorios actuales, debido a que en crudo contiene sustancias potencialmente tóxicas: en las hojas y los tubérculos de la papa aparecen habitualmente varios glicoalcaloides esteroideos (a-solanina, a-chaconina y solanidina, en concreto), que pueden resultar tóxicos para el hombre y los animales si se supera un determinado nivel (Mensinga *et al.*, 2005). El contenido total de alcaloides es generalmente bajo (menos de 20 mg/100 g) en los cultivares de papa, pero puede aumentarse peligrosamente por condiciones de estrés o por la exposición excesiva de los tubérculos a la luz (Korpan *et al.*, 2004).

Entre los riesgos potenciales cabe destacar: la posibilidad de transmisión de alguna de las características introducidas en los vegetales modificados a especies del entorno circundante (sobre todo a parientes silvestres en áreas de origen y diversificación de los cultivos), riesgos ambientales sobre la composición del suelo y de la fauna microscópica del suelo (especialmente reportado en el caso de

vegetales a los que se les ha introducido genes de resistencia a insectos) o riesgos sobre especies que en principio no eran blanco de la acción perseguida. No menos importante es el posible efecto sobre el consumidor (en varios niveles: nutricional, sanitario y sobre la microflora habitual del ser humano) o los denominados "riesgos socioeconómicos", en particular la dependencia del productor y el monopolio por parte de las compañías productoras.

ALGUNAS INQUIETUDES DE LA SOCIEDAD FRENTE A LOS TRANSGÉNICOS

"Los transgénicos provocan resistencia a los antibióticos". Esta afirmación es científicamente muy discutible. La presencia de un marcador de selección que incorpora resistencia a antibióticos no presupone que este gen sea funcional en especies distintas a la que ha servido como receptora del transgén. La posibilidad de que esos genes se incorporaran al propio ser humano durante el proceso de digestión no es real, como irreal sería que se incorporaran otros genes pertenecientes a los alimentos que consumimos (provenientes de seres vivos con material genético). La posibilidad de que esos genes se integren en la microbiota intestinal por mecanismos de transferencia horizontal también es improbable y si ocurriera, en ausencia de presión selectiva se produciría la rápida eliminación del genoma del marcador de selección (Kurland *et al.*, 2003).

De todas formas, la recomendación es eliminar todos los genes de resistencia a antibióticos como marcadores de selección en plantas transgénicas (FAO/WHO, 2000; EFB, 2001). El uso de marcadores de selección positiva no condicionales, ya comentado anteriormente, podría ser una alternativa que la propia biotecnología aporte como solución a este problema. Hay casos descritos de integración de genes en cloroplastos sin utilizar genes de resistencia a antibióticos como marcadores de selección (Daniell *et al.*, 2001b y 2001c).

Aunque la presencia de estos genes innecesarios, indeseables o inaceptables dependiendo de quien opine, no tuviera repercusiones desde el punto de vista de la salud o implicaciones ecológicas, la presencia de un marcador de resistencia con las características de los genes utilizados habitualmente es algo que puede disminuir de forma radical la aceptación pública de los organismos modificados genéticamente. Es por ello que ha cobrado impulso un área de investigación dedicada al desarrollo de estrategias para eliminar los marcadores incorporados en los vegetales modificados, de forma que se generen plantas libres de los mismos (Miki y McHugh, 2004). Entre las múltiples aproximaciones al problema, dos de ellas destacan por su potencial: la más sencilla es la co-transformación de los genes de interés junto con los genes de selección, seguida de la segregación de los genes separados mediante técnicas de mejoramiento genético clásico. Una estrategia más complicada es el uso de recombinasas específicas de sitio, expresadas bajo el control de promotores inducibles, para literalmente "cortar" los genes de selección de la planta transgénica una vez que la selección ha sido posible (Hohn *et al.*, 2001).

"Los transgénicos provocan alergia y cáncer". Respecto al primero de los casos, la introducción de proteínas en un "contexto no propio" podría conducir a un rechazo inmunológico de las mismas por parte de personas susceptibles. Teóricamente es correcto, lo mismo que ocurre con todos los demás alimentos vegetales y animales de origen no transgénico y con derivados de los productos transgénicos que pudieran introducirse en la cadena alimenticia. Los alimentos transgénicos deben cumplir con una serie de requisitos estrictos, similares a los requeridos para la comercialización de un medicamento. Así se ha podido descartar, por ejemplo, la comercialización de una soya (*Glycine max* Sieb. & Zucc.) transgénica que incluía una proteína procedente de una nuez brasileña para suplementar el contenido bajo del aminoácido metionina en la soya (Ramón, 1999). Respecto al segundo de los casos, no hay dato alguno que soporte esta afirmación, por lo que no merece un comentario adicional.

"Los investigadores no controlan la tecnología hasta el punto de predecir sus resultados". En algunos casos es cierto; por ejemplo, hasta la fecha las técnicas de transformación producen vegetales en los que el ADN se integra de forma aleatoria, sin poder predecirse el entorno genético en el que quedará englobado (éste es también uno de los principales problemas de la terapia génica en humanos). Las perspectivas de futuro son interesantes en este punto, al ser la misma biotecnología capaz de proporcionar alternativas adecuadas. Algunos investigadores han centrado su esfuerzo en conseguir la introducción dirigida de los transgenes en los cromosomas vegetales mediante recombinación homóloga (Iida y Terada, 2004). Otra aproximación distinta la han aportado las técnicas de transformación de cloroplastos. La integración de los transgenes en el genoma del cloroplasto se da por recombinación homóloga, en una posición precisa y predeterminada dentro del mismo. Esto se traduce normalmente en una expresión uniforme del transgén a lo largo de los distintos transformantes obtenidos, lo que trae consigo la eliminación del llamado "efecto de posición", frecuentemente observado en vegetales en los que el transgén se integra en el núcleo (Daniell *et al.*, 2002). En los cloroplastos modificados mediante ingeniería genética tampoco se ha observado, además, silenciamiento génico (algo que frecuentemente se ha observado en el caso de plantas que integran el transgén en el núcleo).

"Los alimentos ya no saben como los de antes porque son transgénicos". Este es un problema que no tiene que ver con la ingeniería genética. La necesidad de alimentar a un número creciente de personas ha modificado los patrones de producción, al acelerarse los ciclos de cosecha y recurrir a soluciones agrícolas diferentes a las tradicionales (como hidroponía, uso de invernaderos, etc.) o al mejoramiento genético por métodos clásicos. Muchos de los productos a los que se suelen referir este tipo de frases (fresas -*Fragaria vesca* L.-, duraznos -*Prunus persica* (L.) Batsch- y plátanos –*Musa* sp., por ejemplo) no tienen un equivalente transgénico aprobado para su cultivo, como se puede comprobar en la lista actualizada de cultivos modificados genéticamente aprobados para su uso comercial (AGBIOS, 2006). Aunque amplia, esta lista es pequeña en comparación con las múltiples solicitudes que se reciben para hacer estudios de campo de forma regulada. Una parte de éstas, concretamente las recibidas en Estados Unidos, puede consultarse en la siguiente página de internet: http://www.nbiap.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm.

"Los vegetales transgénicos pueden hibridar con los vegetales silvestres y afectar a la biodiversidad". La potencial diseminación de los organismos genéticamente modificados más allá de sus barreras espaciales o más allá de sus límites como especie cultivada, al hibridar con sus ancestros silvestres o con vegetales emparentados, es un riesgo que se debe tener en consideración. En algunos casos, como el referido anteriormente de las vacunas desarrolladas por plantas transgénicas, el riesgo incluso puede acentuarse si se produjera la transferencia del transgén a cultivos planeados para el consumo normal. La exposición crónica a los antígenos podría traer consigo un pérdida de la eficacia de dicha vacuna. Es por ello que se han diseñado mecanismos para evitar o restringir este "flujo genético".

Tal vez el avance más prometedor se ha dado con la manipulación genética de los cloroplastos. Estos organelos subcelulares desafían las leyes mendelianas de la herencia, al ser exclusivamente transmitidos por línea materna, lo que permite minimizar la posibilidad de transmisión de los transgenes al ambiente por medio de la polinización cruzada (Daniell *et al.*, 1998; Scott y Wilkinson, 1999) y reduce la toxicidad potencial del polen procedente de plantas transgénicas frente a insectos beneficiosos que no sean el objetivo de la transgénesis (De Cosa *et al.*, 2001).

Otras estrategias de control de los organismos genéticamente modificados, enfocadas por ejemplo a limitar la diseminación del polen, a provocar la esterilidad de las semillas o a imponer barreras de hibridación para los transgénicos, pueden ser interesantes siempre que superen sus actuales limitaciones (Daniell, 2002).

COMENTARIOS FINALES

Por lo complejo del tema, es imposible decir un sí o un no rotundo y sin discusión a los organismos modificados genéticamente. No parece razonable esperar que la ingeniería genética por sí sola pueda resolver todos los problemas actuales de la ganadería y la agricultura, ni que acabe con el hambre en el mundo, aunque en algunos casos así se indicó. Pero sí puede constituirse en un motor importante, si se tiene en cuenta el delicado balance beneficio/riesgo inherente a cada uno de los productos derivados de esta tecnología.

Tampoco es posible "santificar" o "demonizar" a todos los organismos modificados genéticamente en conjunto; lo razonable, en virtud de la gran variedad de aspectos analizables y la particularidad de cada uno de ellos, parece ser el análisis detallado y caso por caso de los mismos. Algunas conclusiones, sin embargo, pueden irse avanzando: en la actualidad, el riesgo de cultivar vegetales en países que son centro de diversidad, como ocurre con el maíz en México, es demasiado elevado como para que sea una propuesta atractiva.

El monopolio de unas pocas supercompañías, el único riesgo que en mi opinión ya es una realidad, puede hacer que sólo se comercialicen productos de interés global o para los países desarrollados. Los gobiernos de los países en desarrollo, por tanto, deberán ser responsables de potenciar la investigación encaminada al desarrollo de productos de interés local y al desarrollo de grupos que permitan una relativa independencia tecnológica, o al menos a abatir la dependencia. Del mismo modo, la percepción de la biotecnología por la sociedad debe ser realista y objetiva, mientras que ahora es inexistente o incluso tendenciosa. Una información veraz y fidedigna y el etiquetado de los productos alimenticios que contienen organismos modificados genéticamente son tareas prioritarias, pues el consumidor debe ser libre para poder elegir el tipo de alimento que consume.

BIBLIOGRAFÍA

AGBIOS (2006) Biotech Crop Database. http://64.26.159.139/dbase.php. Verificado el 25 de enero de 2006.

Apse M P, E Blumwald (2002) Engineering salt tolerance in plants. Curr. Opin. Biotech. 13:146-150.

Arencibia A D, E R Carmona, P Tellez, M-T Chan, S-M Yu, L E Trujillo, P Oramas (1998) An efficient protocol for sugarcane (*Saccharum* spp. L.) transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Transgenic Res. 7:213-222.

Babwah A V, C S Waddell (2000) Cytosine deaminase as a substrate-dependent negative selectable marker in *Brassica napus*. Theor. Appl. Genet. 100:802-809.

Banno H, N-H Chua (2002) Esr1-A plant gene that can promote plant regeneration and transformation. United States Patent Application 20020157140.

Bechtold N, J Ellis, G Pelletier (1993) *In planta Agrobacterium* mediated gene transfer by infiltration of adult *Arabidopsis thaliana* plants. CR Acad. Sci. III-Vie 316:1194-1199.

Clough S J, A F Bent (1998) Floral dip: a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 16:735-743.

Chen T H, N Murata (2002) Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Curr. Opin. Plant Biol. 5:250-257.

Cheng M, J E Fry, S Pang, H Zhou, C M Hironaka, D R Duncan, T W Conner, Y Wan (1997) Genetic transformation of wheat mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Physiol. 115:971-980.

Daniell H (2002) Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. Nat. Biotech. 20:581-586.

Daniell H, R Datta, S Varma, S Gray, S B Lee (1998) Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. Nat. Biotech. 16:345-348.

Daniell H, S Lee, T Panchal, P O Wiebe (2001a) Expression of the native cholera toxin B subunit gene and assembly as functional oligomers in transgenic tobacco chloroplasts. J. Mol. Biol. 311:1001-1009.

Daniell H, B Muthukumar, S B Lee (2001b) Marker free transgenic plants: engineering the chloroplast genome without the use of antibiotic selection. Curr. Genet. 39:109-116.

Daniell H, P O Wiebe, A F Millan (2001c) Antibiotic-free chloroplast genetic engineering - an environmentally friendly approach. Trends Plant Sci. 6:237-239.

Daniell H, M S Khan, L Allison (2002) Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. Trends Plant Sci. 7:84-91.

De Cosa B, W Moar, S B Lee, M Miller, H Daniell (2001) Overexpression of the *Bt* cry2Aa2 operon in chloroplasts leads to formation of insecticidal crystals. Nat. Biotech. 19:71-74.

Ebinuma H, K Sugita, E Matsunaga, S Endo, K Yamada, A Komamine (2001) Systems for the removal of a selection marker and their combination with a positive marker. Plant Cell Rep. 20:383-392.

EFB (European Federation of Biotechnology) (2001) Antibiotic Resistance Markers in Genetically Modified (GM) Crops, Briefing Paper 10. http://www.efbweb.org/public/pubview.htm. Verificado el 25 de enero de 2006.

Endo S, T Kasahara, K Sugita, E Matsunaga, H Ebinuma (2001) The isopentenyl transferase gene is effective as a selectable marker gene for plant transformation in tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Petite Havana SRI). Plant Cell Rep. 20:60-66.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization) (2000) Safety assessment of foods derived from genetically modified microorganisms, a joint FAO/WHO expert consultation on foods derived from biotechnology, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/ec_sept2001/en/. Verificado el 25 de enero de 2006.

Fernández F J (2002) Alimentos modificados genéticamente: descripción y perspectivas. Tecnol. Alimentos (México) 37:7-11.

Finer J J, K R Finer, T Ponappa (1999) Particle bombardment mediated transformation. *In*: Current Topics in Microbiology and Immunology (Vol. 240) Plant Biotechnology: New Products and Applications. J Hammond, P B McGarvey, V Yusibov (eds). Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania. pp:59-80.

Haldrup A, S G Pettersen, F T Okkels (1998a) Positive selection: a plant selection principle based on xylose isomerase, an enzyme used in the food industry. Plant Cell Rep. 18:76-81.

Haldrup A, S G Pettersen, F T Okkels (1998b) The xylose isomerase gene from *Thermoanaerobacterium thermosulfurogenes* allows effective selection of transgenic plant cells using D-xylose as the selection agent. Plant Mol. Biol. 37:287-296.

Hansen G, R D Shillito, M D Chilton (1997) T-strand integration in maize protoplasts after codelivery of a T-DNA substrate and virulence genes. P. Nat. Acad. Sci. USA 95:11726-11730.

Hansen G, M D Chilton (1999) Lessons in gene transfer to plants by a gifted microbe. *In*: Current Topics in Microbiology and Immunology (Vol. 240) Plant Biotechnology: New Products and Applications. J Hammond, P B McGarvey, V Yusibov (eds). Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania. pp:21-57.

Hansen G, M S Wright (1999) Recent advances in the transformation of plants. Trends Plant Sci. 4:226-231.

Hirsch RE, M R Sussman (1999) Improving nutrient capture from soil by the genetic manipulation of crop plants. Trends Biotech. 17:356-361.

Hoffman F (1996) Laser microbeams for the manipulation of plant cells and subcellular structures. Plant Sci. 113:1-11.

Hohn B, A A Levy, H Puchta (2001) Elimination of selection markers from transgenic plants. Curr. Opin. Biotech. 12:139-143.

Iida S, R Terada (2004) A tale of two integrations, transgene and T-DNA: gene targeting by homologous recombination in rice. Curr. Opin. Biotech. 15:132-138.

Ishida Y, H Saito, S Ohta, Y Hiei, T Komari, T Kumashiro (1996) High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Nat. Biotech. 14:745-750.

Joersbo M, F T Okkels (1996) A novel principle for selection of transgenic plant cells: positive selection. Plant Cell Rep. 16:219-221.

Joersbo M, I Donaldson, J Kreiberg, S G Petersen, J Brunstedt (1998) Analysis of mannose selection used for transformation of sugar beet. Mol. Breed. 4:111-117.

Korpan Y I, E A Nazarenko, I V Skryshevskaya, C Martelet, N Jaffrezic-Renault, A V El'skaya (2004) Potato glycoalkaloids: true safety or false sense of security? Trends Biotech. 22:147-151.

Kurland C G, B Canback, O G Berg (2003) Horizontal gene transfer: a critical view. P. Nat. Acad. Sci. USA 100:9658-9662.

Langridge P, R Brettschneider, P Lazzeri, H Lorz (1992) Transformation of cereals via *Agrobacterium* and the pollen pathway: a critical assessment. Plant J. 2:631-638.

Leduc N, E Matthys-Rochon, M Rougier, L Mogensen, P Holm, J L Magnard, C Dumas (1996) Isolated maize zygotes mimic in vivo embryonic development and express microinjected genes when cultured *in vitro*. Devolop. Biol. 10:190-203.

Maheshwari N, K Rajyalakshmi, K Baweja, S K Dhir (1995) In vitro culture of wheat and genetic transformation - retrospect and prospect. Crit. Rev. Plant Sci. 14:149-178.

Mensinga T T, A J Sips, C J Rompelberg, K van Twillert, J Meulenbelt, H J van den Top, H P van Egmond (2005) Potato glycoalkaloids and adverse effects in humans: an ascending dose study. Regul. Toxicol. Pharmacol. 41:66-72.

Miki B, S McHugh (2004) Selectable marker genes in transgenic plants: applications, alternatives and biosafety. J. Biotech. 107:193-232.

Ramón D (1999) Los Genes que Comemos. Ed. Algar. Alzira, Valencia, España. 120 p.

Randolph-Anderson B, J E Boynton, J Dawson, E Dunder, R Eskes, N W Gillham, A Johnson, P S Perlman, J Suttie, W C Heiser (1995) Sub-micron gold particles are superior to larger particles for efficient biolistic transformation of organelles and some cell types. BioRad Bull. 2015:1-4.

Ruf S, M Hermann, I J Berger, H Carrer, R Bock (2001) Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruit. Nat. Biotech. 19:870-875.

Scott S E, M J Wilkinson (1999) Low probability of chloroplast movement from oilseed rape (*Brassica napus*) into wild *Brassica rapa*. Nat. Biotech. 17:390-392.

Shillito R D (1999) Methods of genetic transformations: electroporation and polyethylene glycol treatment. *In*: Molecular Improvement of Cereal Crops. L Vasil (ed). Kluwer, Dordrecht, Holanda. pp:9-20.

Sidorov V A, D Kasten, S-Z Pang, P T J Hajdukiewicz, J M Staub, N S Nehra (1999) Stable chloroplast transformation in potato: use of green fluorescent protein as a plastid marker. Plant J. 19:209-216.

Smith R H, E E Hood (1995) *Agrobacterium tumefaciens* transformation of monocotyledons. Crop Sci. 35:301-309.

Thompson J A, P R Drayton, B R Frame, K Wang, J M Dunwell (1995) Maize transformation using silicon carbide whiskers: a review. Euphytica 85:75-80.

Tingay S, D McElroy, R Kalla, S Fieg, M Wang, S Thornton, R Brettell (1997) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated barley transformation. Plant J. 11:1369-1376.

Touraev A, E Estöger, V Voronin, E Heberle-Bors (1997) Plant male germ line transformation. Plant J. 12:949-956.

Zhou G Y, J Weng, Y Zeng, J Huang, S Qian, G Liu (1983) Introduction of exogenous DNA into cotton embryos. Meth. Enzymol. 101:433-481.

Zuo J, Q-W Niu, G Frugis, N-H Chua (2002a) The WUSCHEL gene promotes vegetative-to-embryonic transition in *Arabidopsis*. Plant J. 30:349-359.

Zuo J, Q-W Niu, Y Ikeda, N-H Chua (2002b) Marker-free transformation: increasing transformation frequency by the use of regeneration-promoting genes. Curr. Opin. Biotech. 13:173-180.