

LO QUE VD. DEBE SABER SOBRE: **LOS ALIMENTOS TRANSGÉNICOS** (y organismos manipulados genéticamente)

LOS ALIMENTOS TRANSGÉNICOS
(y organismos manipulados genéticamente)



Elías F. Rodríguez Ferri, José M^º Zumalacárregui, Andrés Otero Carballeira,
Alfredo Calleja Suárez y Luis F. de la Fuente Crespo

LO QUE VD. DEBE SABER SOBRE
LOS ALIMENTOS TRANSGÉNICOS
(y organismos manipulados genéticamente)

Elías F. Rodríguez Ferri
José M^a. Zumalacárregui Rodríguez
Andrés Otero Carballeira
Alfredo Calleja Suárez
Luis F. de la Fuente Crespo

Facultad de Veterinaria. Universidad de León

Ilustraciones: Alvaro González Gallardo

EDICION CAJA ESPAÑA
Depósito Legal: LE-984-2003
I.S.B.N. 84-95917-10-6
Imprime: Rubín, S.L

INTRODUCCIÓN

Desde hace apenas unos pocos años, ha comenzado a introducirse en el lenguaje común, del hombre de la calle, términos como **“transgénicos”** o **“alimentos transgénicos”** cuya sola mención induce, cuanto menos, desconfianza y muy a menudo un debate social con opiniones controvertidas y no pocas veces interesadas, según cual sea el origen de las mismas. En cualquier caso, lo que no admite duda es que cualquier avance científico que permita al hombre producir mayor cantidad y mejor calidad de alimentos, siempre en condiciones de seguridad, debe de ser bien recibido, pues no se puede olvidar que, a fecha de hoy, millones de seres sufren y mueren como consecuencia del hambre en extensas regiones del mundo. Según la FAO, se espera que la Agricultura permita alimentar una población humana en constante aumento, que para el 2020, se calcula en unos 8 mil millones. Dentro de estos, más de 840 millones de seres humanos pasan hambre y unos 1.300 millones carecen de agua limpia, igual número que los que se considera que sobreviven con menos de 1 dólar al día. La Biotecnología, de la que surgen los alimentos transgénicos y otros organismos y microorganismos, aporta directa e indirectamente una influencia incuestionable y puede ayudar decididamente a paliar estos efectos.

En esta cartilla de divulgación intentaremos recorrer los aspectos más relevantes de esta importante cuestión. Para ello nos referiremos primero a algunas de las cuestiones básicas, sin cuya comprensión sería imposible entender los fundamentos que permiten la obtención de este tipo de alimentos. Brevemente, también, nos ocuparemos de la metodología científica que se pone en práctica con el propósito de obtener alimentos transgénicos y, finalmente, realizaremos un rápido recorrido por la situación actual y sus previsiones a corto y largo plazo.

Los antecedentes

A nadie se le oculta que el avance de la Biología en los últimos años ha sido espectacular. El siglo XX ha sido particularmente fructífero en logros que se refieren al conocimiento del funcionamiento de los seres vivos (animales o microorganismos) en sus hábitats naturales pero, sobre todo, ha quedado claro que todos los seres vivos tenemos en común un tipo de macromoléculas orgánicas denominadas ácidos nucleicos (**ácido desoxirribonucleico -ADN- y ácido ribonucleico -ARN-**) que constituyen el elemento central, la unidad molecular de la Biología. En ambas se sitúa la esencia de la vida y su proyección desde los padres a los hijos en forma de herencia. Este gran descubrimiento, que tuvo lugar a mediados del siglo pasado, curiosamente a partir de experimentos llevados a cabo con bacterias, demostró el papel central del ADN en la transferencia de información y en la herencia. Desde entonces, la disponibilidad de herramientas biológicas (cada vez en mayor número y cada vez con mayores utilidades) ha permitido avances que han dado lugar a una nueva rama de la Ciencia Biológica denominada **Ingeniería Genética o Tecnología del ADN recombinante**. Precisamente en la Tecnología del ADN recombinante debe situarse el origen de los denominados “**Organismos Modificados Genéticamente**”, a partir de los que se obtienen los vulgarmente conocidos como “**Alimentos Transgénicos**”.

El ADN (ácido desoxirribonucleico) es el elemento común que está presente en las células que forman los tejidos de animales o de plantas y en los microorganismos (bacterias, hongos, parásitos o virus). El ADN es el portador de la información genética de todos los seres vivos y está formado por secuencias de **nucleótidos** (polinucleótidos) formados por **desoxirribosa** (un azúcar de 5 átomos de carbono), **ácido fosfórico y una base nitrogenada** (bases púricas o pirimídicas: adenina -A- y guanina -G- en el caso de las púricas, y timina -T- y citosina -C-, en el caso de las pirimidicas). El ADN se dispone en forma de una doble hélice

formada por dos hebras (cadenas) complementarias y antiparalelas (poseen sentido contrario, en una 5'-3' siendo 3'-5' en la otra) que permanecen unidas por enlaces entre las bases (la adenina se une a la timina y la citosina lo hace con la guanina). Cada nucleótido se identifica por su base nitrogenada y un triplete (3 nucleótidos) constituye un **codón**. Un codón porta información para la síntesis de un aminoácido en los ribosomas. Una cadena de aminoácidos forma un péptido y un polipéptido forma una **proteína**. Las proteínas son los elementos plásticos más importantes de los organismos y, por ello, lo son también los ácidos nucleicos (el ADN) que determinan su síntesis.

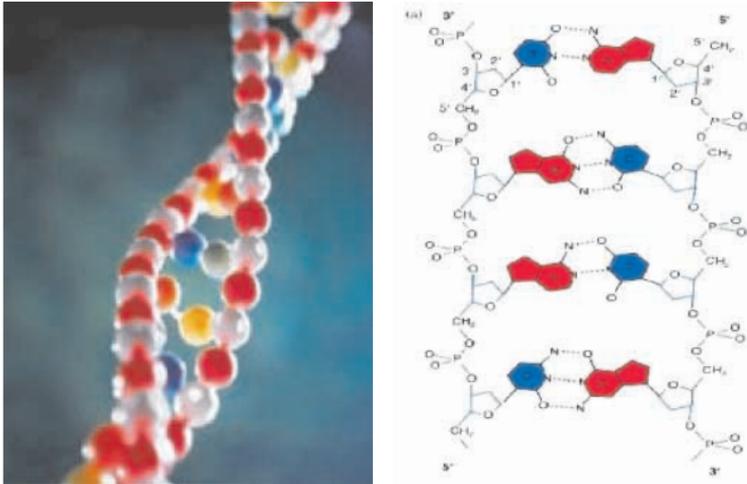


Fig. 1. La doble cadena del ADN y la secuencia de su composición (ácido fosfórico, desoxirribosa y bases nitrogenadas)

www.iuta.univ-Lyon1.fr/genbioB_pres.shtml; www.ludwig-sun1.unil.ch/~vjongene/molbio/chapt_3htm

Las secuencias funcionales del ADN, que están en el origen del proceso de la síntesis proteica, constituyen los **genes** y el conjunto de genes forman los **cromosomas** (un cromosoma en el caso de las bacterias o varios cromosomas en el caso de los animales y el hombre). No todo el cromosoma son

secuencias funcionales (genes funcionales) sino que existen fragmentos que no lo son; incluso hay genes que no llegan a expresarse en el curso de la vida del individuo pues tal manifestación está condicionada a una serie de circunstancias ambientales que no siempre se dan.

Una de las primeras ideas que revolucionaron en su momento la genética molecular fue la posibilidad (después demostrada) de que **un gen codificara solamente para una proteína**. El proceso de síntesis proteica exige previamente la separación de la doble hélice, la síntesis de una cadena complementaria de ARN mensajero (ARNm) y su traducción a proteínas en los ribosomas celulares; para ello, el ARNm dirige un proceso de incorporación de aminoácidos en el que participan otros fragmentos de ARN más cortos, denominados ARN de transferencia (**ARNt**).

Un gen se puede aislar, copiar, amplificar e insertar dentro del ADN de otro ser vivo, bien de la misma o incluso de distinta especie; es decir, en la práctica, un gen se puede manipular (**manipulación genética**). Para lo primero se utilizan proteínas especiales de naturaleza enzimática, llamadas **enzimas de restricción** que rompen determinadas uniones entre las secuencias. La inserción de un fragmento de ADN en otra molécula distinta recibe el nombre de **recombinación** y, como consecuencia de ello, el nuevo gen ("**transgen**") expresa un carácter, también nuevo, para el que codificaba. Todo el proceso descrito supone una nueva metodología de trabajo a la que se ha dado en llamar "**Ingeniería Genética**" o "**Tecnología del ADN recombinante**" y el organismo en el que ha tenido lugar el procedimiento es un "**organismo manipulado genéticamente, un OMG**", como habíamos visto al principio. Desde el punto de vista de los OMG, hay genes "**funcionales**" (que expresan un carácter útil y buscado) y genes "**marcadores**" que han de acompañar a los primeros para permitir posteriormente su identificación facilitando, con ello, la selección del individuo nuevo. La mayoría de estos genes marcadores expresan caracteres de "resistencia a antibióticos".

En definitiva, pues, la **Ingeniería Genética** permite modificar el genoma de una planta comestible, de un animal o de un microorganismo (bacteria, levadura, virus,...), con un propósito concreto. Este es, sin duda, un punto particularmente importante en los términos que aquí nos interesan, pues mientras que en los procedimientos de mejora tradicional de plantas o animales, la selección de los mejores y los más aptos para una determinada finalidad, es un proceso lento (habitualmente se necesitan decenas o centenares de años bajo la dirección del hombre o miles de años si es la naturaleza quien se encarga del proceso de forma natural) y muy laborioso, en el que no siempre se consigue el objetivo (en el proceso de selección se arrastran muchos genes indeseables, que es preciso eliminar mediante cruces dirigidos y la consiguiente selección), mediante la Ingeniería Genética se puede modificar con total precisión un solo gen o incorporar uno nuevo, siendo a la vez el proceso “mucho más limpio y preciso” y, naturalmente, mucho más rápido.

El sistema de selección aplicado a la mejora animal o vegetal, ejecutado con fundamentos científicos, se desarrolló a partir de los trabajos del monje austriaco Gregorio Mendel (1822-1884), quien haciendo gala de una extraordinaria capacidad de observación llevó a cabo, con éxito, una serie de experimentos con plantas de guisantes en el jardín de su monasterio, que le permitieron enunciar las tres leyes fundamentales de la herencia, en adelante denominadas Leyes de Mendel (**Primera.**- cuando se cruzan dos variedades puras de la misma especie todos los hijos son iguales y pueden parecerse a uno u otro de los progenitores, o a ninguno. **Segunda.**- cuando se cruzan entre sí los híbridos de la primera generación, los hijos pueden pertenecer a uno de tres grupos: una cuarta parte -25%- se parecen a su abuela, otra -25%- a su abuelo y la mitad -50%-, a los padres. **Tercera.**- cuando las dos variedades de partida difieren entre sí en dos o más rasgos, cada uno se transmite según las dos primeras leyes, independientemente de las demás, aunque aquí pueden darse excepciones motivadas, por ejemplo, por los denominados caracteres ligados al sexo).

Cuadro 1. La historia de la Biotecnología aplicada a la modificación de alimentos y otros

año	acontecimiento	año	acontecimiento
8000 AC	El hombre aprende a cultivar las plantas y domestica el ganado. Se cultivan por primera vez patatas como alimento para el hombre	4000-2000 AC	En Egipto se produce pan y cerveza. En Mesopotamia se produce cerveza para producir alcohol
1859	Ch. Darwin publica la teoría de la evolución por selección natural	1857	L. Pasteur prueba la teoría de la fermentación por causa de la fermentación
1933	Se comercializa el primer maíz híbrido	1941	A. Jost, un nazi, descubre la transferencia de genes por primera vez
1946	Se descubre la recombinación genética en virus	1947	McClintock descubre los genes saltadores
1956	Kornberg descubre la ADN-polimerasa	1961	En USA se realiza la primera clonación de <i>Bacillus thuringiensis</i>
1969	Por primera vez se sintetiza 'in vitro' una proteína	1971	Primera síntesis de insulina humana
1976	Se expresan genes de levaduras en <i>E.coli</i> y se determina la secuencia de pares de bases para un gen	1977	Se expresan genes de bacterias en levaduras
1981	Se produce el primer animal transgénico mediante transferencia de genes de otros animales al ratón	1982	Se desarrolla la primera insulina recombinante humana (insulina-f) genéticamente
1985	Se desarrollan plantas transgénicas resistentes a insectos, virus y bacterias	1986	Se produce la primera insulina humana (insulina-h) recombinante (primeras plantas transgénicas)
1997	Clonación de la oveja Dolly, el primer animal obtenido de una célula adulta. Se comercializa soja y algodón resistentes a insecticidas. Se prueban en Kenia patatas transgénicas dulces, resistentes a virus	2000	Primer mapa genético de una planta: <i>Arabidopsis thaliana</i> . Se comercializa el arroz "dorado" (Golden Rice)

Selección genética de vegetales, animales y microorganismos para obtener nuevas utilidades

acontecimiento	año	acontecimiento
Se utilizan levaduras para obtener pan. En Egipto, Sumeria y China se hace queso y se fermenta el mosto para el vino	1830 y 1833	Se descubren las proteínas. Se descubre y aísla la primera enzima
Se propone que los microbios son la causa de la fermentación	1865	G. Mendel descubre las leyes de la herencia en estudios con guisantes
El microbiólogo danés, utiliza por primera vez el término Ingeniería Genética	1944	Avery <i>et al</i> demuestran que el ADN es el portador de la información genética
Se descubren los transposones	1953	Watson y Crick publican en <i>Nature</i> la estructura en doble hélice del ADN
Se registra el primer biopesticida: <i>Bacillus thuringiensis</i> ó Bt	1963	N. Borlaug desarrolla nuevas variedades de trigo que aumentan un 70% la producción
Se realiza la clonación completa de un gen	1973	Técnicas para cortar (enzimas de restricción) y unir (ligasas) ADN
Se clonan genes humanos en bacterias	1980	Se desarrolla el primer sintetizador de genes y se introducen genes humanos (Interferón) en una bacteria
Se desarrolla la primera vacuna de ADN recombinante para animales, la FDA aprueba la vacuna contra la rabia y se consigue transformar la levadura en una petunia	1983	Se descubre la PCR y se produce la primera transformación genética por el plásmido Ti
Se desarrolla la primera vacuna recombinante contra el virus del hepatitis B) y se prueban las primeras plantas transgénicas (tabaco)	1990 y 1994	Se prueba el uso de una enzima artificial en la fabricación de queso. Se obtiene la primera vaca transgénica y el maíz Bt. En UK se introduce la primera levadura modificada. El 18-5-94, la FDA autorizó la comercialización del tomate <i>Flavr-Savr</i>
Se secuencian el genoma completo de una bacteria: <i>Escherichia coli</i> y de un organismo modelo: <i>Arabidopsis thaliana</i> . Disponible el primer mapa genético, que incorpora β-caroteno	2001	Primer mapa completo del genoma del arroz. Científicos chinos desarrollan un tipo de "superarroz". Se desarrollan tomates que crecen en agua y suelos salinos y se secuencian el genoma de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>

ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

Estamos en condiciones de entender, ahora, que los **alimentos transgénicos** son los *“alimentos obtenidos a partir de/con la participación de seres vivos (plantas, animales o microorganismos) que han sido manipulados genéticamente mediante la incorporación, o la inactivación, o la supresión de genes, lo que modifica su genoma; en el primer caso, procedentes de la misma o de distinta especie”*. Como se puede observar, tales posibilidades exceden de la que implica un **“transgénico”** (literalmente supone la incorporación de un gen nuevo -un transgen- en el genoma de un ser vivo), por lo que muchos de los expertos consideran más apropiado referirse a “organismos manipulados genéticamente” (OMG) pues esa manipulación no excluye ni la transgénesis, ni la modificación (por ejemplo inactivación de uno o de varios genes), aunque (como tantas veces ocurre) el uso del término “transgénico” ha calado tan hondo entre los usuarios que en la práctica implica ya todo. Según el Grupo de Trabajo de Bioseguridad de la FAO (1998), los OMG incluyen manipulaciones cromosómicas, transferencia de genes, fusión o reordenamientos, destrucción, inactivación o pérdida de genes, trasplante de organelas celulares, fusión celular, trasplantes nucleares o clonación de organismos multicelulares a partir de cultivos de células o de embriones insertados con genes nuevos.

Las técnicas de transgénesis (producción de transgénicos) fueron utilizadas por primera vez en los animales en 1981 y al cabo de poco tiempo en las plantas. Las primeras pruebas con cultivos transgénicos de tabaco se llevaron a cabo casi de forma simultánea en Francia y en los Estados Unidos en 1986 y, unos años más tarde, en 1992, se comenzó a cultivar en China una planta de tabaco transgénico resistente a ciertos virus, cuya comercialización fue iniciada en 1993.

Un avance espectacular en la carrera de producción de alimentos transgénicos se produjo en 1994 cuando la empresa Calgene (hoy integrada en Monsanto) comercializó el tomate denominado *Flavr-Savr* (o tomate 'MacGregor') en el que mediante Ingeniería Genética se había modificado su aspecto, su sabor¹ y, sobre todo, el tiempo de maduración y conservación (ver después). Desde 1996 hasta la fecha, en muchos países, pero de forma particular en los Estados Unidos, Canadá y Japón, ha sido continua y progresiva la aparición de marcas de cereales modificados genéticamente.

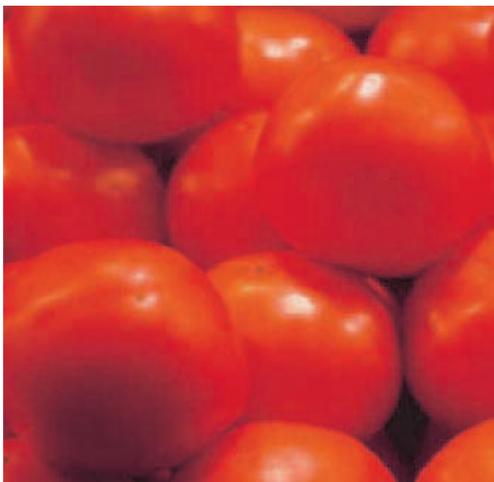


Fig. 2. El tomate MacGregor (*Flavr Savr*)

www.biochem.arizona.edu/.../pages/Lecture18/Lecture18.html

¹ Precisamente al sabor de los tomates MacGregor, se atribuye el escaso éxito que tuvo su comercialización en fresco, hecho que parece ha reorientado últimamente su destino hacia fines industriales

TIPOS DE ORGANISMOS TRANSGÉNICOS (OMG)

En términos generales puede hablarse de tres grandes grupos de OMG, en dependencia del grupo biológico a que pertenezcan: plantas, animales o microorganismos.

1. **Plantas transgénicas:** las plantas transgénicas no son otra cosa que vegetales cuyo genoma (su ADN) ha sido modificado, buscando diferentes objetivos:
 - i. La obtención de una planta nueva desde el punto de vista de su uso como alimento, es decir que se persigue la obtención de un tipo de alimento de origen vegetal nuevo o se busca una modificación del vegetal que proporcione mayor utilidad desde el punto de vista alimentario (se tratará de **alimentos transgénicos de origen vegetal**)
 - ii. El propósito puede ser la producción de **plantas descontaminadoras** de suelos, es decir, plantas que eliminan contaminaciones indeseables del suelo. Sucede, por ejemplo, en el caso de algunas plantas transgénicas que son capaces de resistir condiciones normalmente tóxicas del terreno debidas a contaminaciones altas o muy altas por metales pesados o por arsénico. Este tipo de plantas podrían utilizarse en la descontaminación de zonas con alto nivel de residuos procedentes de la industria química o minera.
 - iii. La producción de plantas transgénicas útiles como combustibles biológicos (**biocombustibles**), por fermentación. La razón es que tales plantas poseen una elevada concentración de polímeros de carbohidratos.
 - iv. La producción de plantas transgénicas en las que se han introducido genes que expresan **proteínas terapéuticas (fármacos) o antígenos vacunales**, representa una opción de transgénesis aplicada de la

mayor utilidad práctica, pues puede servirle a la propia planta para adquirir resistencias de interés para ella o para producir un producto útil al hombre (por ejemplo, el caso de las vacunas comestibles).

- v. La obtención de plantas en las que mediante estos métodos, se han **mejorado sus caracteres agronómicos**.
2. **Animales transgénicos:** son animales que han sido modificados genéticamente para permitir mejorar su producción (mayor producción de carne, más leche, etc.) o simplemente para introducir la producción de un carácter nuevo (una proteína, por ejemplo), que es utilizado directamente por el hombre (es el caso de algunos animales que se han modificado para producir lactoferrina humana, factor antihemofílico, etc.), o para aumentar su ritmo de crecimiento mediante la introducción genes de otra especie que permite multiplicar por dos o por tres esa tasa. Un tipo especial de animales transgénicos son los denominados animales *knock-out* (animales k.o.), en los que simplemente se ha inactivado el gen propio que codifica para un carácter particular, propio de la especie, introduciéndoles el que corresponde al hombre o a otra especie animal, comportándose así como “modelos” para el estudio de enfermedades humanas, o “modelos experimentales” en enfermedades animales. También se producen estos animales, con el interés añadido de servir como potenciales donantes de órganos para el hombre (xenotrasplantes), aunque todo esto todavía es materia experimental y objeto de una fuerte polémica social y médica.
3. **Microorganismos transgénicos:** se trata, por lo general, de levaduras y bacterias de interés industrial, que mediante transgénesis se modifican para eliminar inconvenientes de tipo industrial o, simplemente, para producir algún producto de interés (por ejemplo, un fármaco, una proteína o simplemente un antígeno vacunal).



- Fig. 3. 3.1: Distinto tipo de verduras y hortalizas de origen transgénico (tomate, zanahoria, brócoli, etc.) (www.trainermed.com/2262transgenicos.htm).
- 3.2. Ejemplo de plantas crucíferas transgénicas, útiles en la descontaminación de suelos (www.hoseito.com/FLORES%20SILVESTRES/afamilia.htm).
- 3.3. Un ejemplo de planta transgénica utilizable como combustible biológico (www.bioenergy.oml.gov/gallery/).
- 3.4. Ratones transgénicos (www.ind.ntou.edu.tw/~jklu/transgene/transgene.html).
- 3.5. Cerdos transgénicos (www.agweb.okstate.edu/agedcm4h/projects/workshop).
- 3.6. Levaduras transgénicas (www.gsf.de/OA/mu1_99/mu1_99p4.html).

PRODUCCIÓN DE PLANTAS TRANSGÉNICAS (alimentos transgénicos de origen vegetal)

La modificación genética de las plantas, con el propósito de obtener un cambio útil desde el punto de vista alimentario, se basa en la naturaleza totipotente de las células somáticas de algunos vegetales (es decir, células capaces de originar cualquier otro tipo de célula, incluyendo con ello la planta completa). Para llevar a cabo la modificación genética (la transgénesis) se utilizan, por lo general, dos procedimientos de transferencia del ADN.

1. **Utilización de vectores.** Un vector suele ser habitualmente un **plásmido**, es decir, un fragmento de ADN no cromosómico (por tanto libre en el citoplasma), dotado de capacidad de replicación autónoma, que suelen ser habituales en el genoma de muchas bacterias. Algunos de estos plásmidos llevan genes que codifican para caracteres de mucho interés, como puede ser por ejemplo un determinado factor de virulencia (es decir, una estructura o una sustancia -por ejem. una toxina- producida por la bacteria que condiciona su patogenicidad) o la resistencia a un antibiótico determinado. En *Agrobacterium tumefaciens*, una bacteria que suele encontrarse en el suelo, aparece un plásmido denominado "Ti" (indica "inductor de tumores") y cuando la bacteria infecta la planta (debido a un corte o por un traumatismo), se forman tumores (o agallas) que suelen ser muy evidentes en plantas dicotiledóneas (como las legumbres, por ejemplo). También pueden utilizarse **vectores víricos** en la transgénesis (ver después).
2. **La transferencia directa del gen (o genes)** desde un organismo a otro distinto mediante varios métodos:
 - i. **Biobalística (o Biolística).** Es un procedimiento muy utilizado, sencillo y barato, que permite en la práctica

el bombardeo de una célula con fragmentos del gen que interesa introducir mediante el uso de aparatos denominados “cañones de genes”, aunque posee limitaciones.

- ii. **Transformación de protoplastos.** Sólo es aplicable en el caso de plantas que puedan regenerarse a partir de protoplastos (células sin pared externa). Para introducir el ADN (genes) pueden aplicarse métodos químicos, físicos (mediante **electroporación**) o puede realizarse la fusión de los protoplastos con gotas de grasa denominadas **liposomas**, que llevan en su interior el gen deseado.
- iii. **Microinyección directa de ADN.** Es un procedimiento poco útil pues solo puede trabajarse con una célula por experimento y precisa de personal muy cualificado.

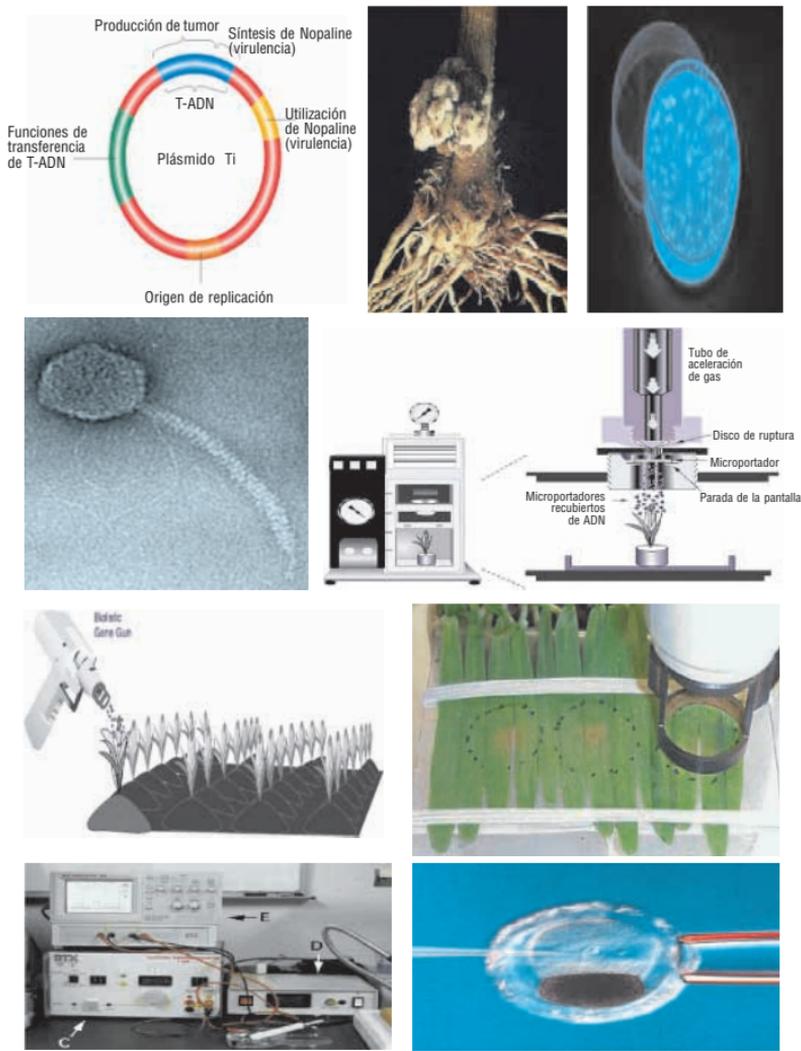


Fig. 4.4.1. El plásmido Ti, que interviene en la transferencia de genes (www.boneslab.chembiontu.no/B1211/TG-planter) ; 4.2. ejemplo de tumores o “agallas” producidos por *Agrobacterium tumefaciens* y colonias en placa (www.biochem.arizona.edu) ; 4.3. El fago lambda, un tipo de virus bacteriano utilizable como vector de genes (www.zum.de/Faecher/Materialien) ; 4.4. un modelo de cañón de genes utilizable en la transferencia genética (www.biochem.arizona.edu) ; 4.5 y 4.6. pistolas de genes en la transferencia (www.biochem.arizona.edu). 4.7. Un electroporador, utilizado para forzar la entrada de genes en el interior de una célula (www.frontier.kyoto-u.ac.jp/~protocol/apparatus.html) ; 4.8. Inyección directa de ADN en una célula (ovocito) (www.ret.upeun.edu/ReserachCenter) .

Producción de plantas transgénicas mediante el uso de vectores

Como se ha señalado anteriormente se utilizan plásmidos de origen bacteriano, de la bacteria vegetal *Agrobacterium tumefaciens*, que porta el plásmido Ti. La particularidad de este plásmido reside en que posee un fragmento denominado T-ADN que le permite movilizarse (transferirse), debido a las características de las secuencias flanqueantes (las partes del ADN que limitan con el fragmento movilizable). Durante el proceso de transgénesis, el T-ADN se sustituye por el gen deseado (transgen).

En el ADN del plásmido, junto al transgén de interés, se introducen también uno o dos genes (según el sistema de uno o dos plásmidos; en el caso más complejo, uno de los genes puede ser utilizado en plantas y el otro en bacterias) que codifican resistencia a antibióticos. Esa característica, que pasa igualmente al OMG, permite su selección cuando las hojas transformadas se colocan en un medio que contiene el (los) antibióticos en cuestión, pues sólo ellas sobrevivirán, mientras que las plantas no transformadas son eliminadas por la acción del antibiótico. La producción de plantas transgénicas mediante el uso de vectores se ha utilizado mucho en plantas dicotiledóneas (por ejemplo en el brócoli).

Producción de plantas transgénicas mediante transferencia directa del ADN

El sistema de transferencia directa de ADN es un procedimiento más versátil. Es útil en plantas monocotiledóneas, incluyendo todo tipo de cereales (arroz, trigo, maíz, centeno, cebada, etc.) y, además, admite la transferencia tanto de ADN simple como incorporado a un vector. Como hemos señalado antes, pueden utilizarse tres métodos principales:

a) **Cañón de genes (Biolística o biobalística)**. El sistema utiliza un dispositivo que permite, primero, precipitar los genes

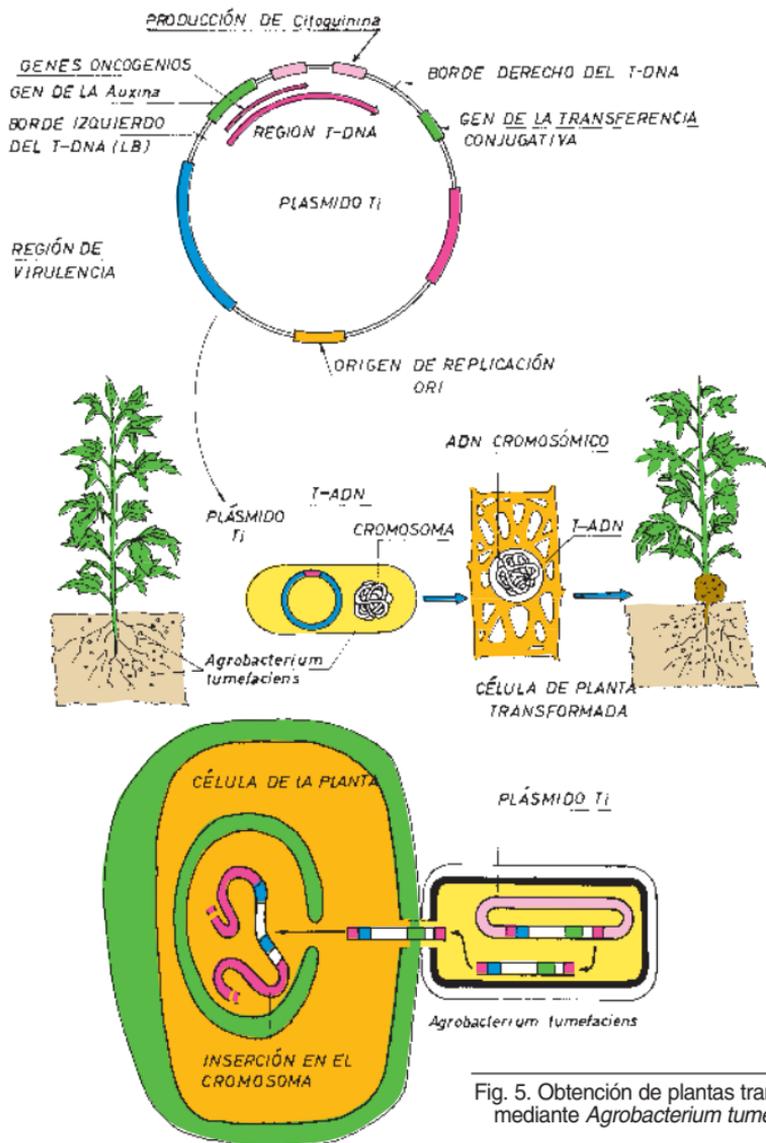


Fig. 5. Obtención de plantas transgénicas mediante *Agrobacterium tumefaciens*

(es decir, el ADN de interés, que está flanqueado por un fragmento que codifica una resistencia antibiótica) con micropartículas de oro o de tungsteno formando microbolitas metálicas recubiertas con el transgen, con las que luego se bombardean las células vegetales (por lo general trozos de hojas, cultivos de células o protoplastos) consiguiéndose la penetración de algunas de ellas (y los correspondientes genes). Más tarde, las células transformadas (en las que se ha llevado a cabo la recombinación) se seleccionan en un medio que contiene los antibióticos para los que ellas son ahora resistentes, mientras que las células no transformadas no son capaces de crecer y mueren por acción de estas sustancias. El sistema ha sido utilizado en la producción de cereales transgénicos como el trigo o el maíz, además de en otro tipo de vegetales y cultivos como álamo, arándano, caña de azúcar, papaya, soja o tabaco.

b) **Transgénesis mediante electroporación.** Se trata de un procedimiento que utiliza descargas eléctricas para producir pequeños poros en la pared de la célula vegetal que permiten la entrada del transgén. También se puede conseguir la entrada de ADN y transformación celular, mediante el uso de **liposomas** (gotas de lípidos que actúan como vehículos del transgen). Por este procedimiento se han conseguido cultivos transgénicos de arroz, soja, cítricos, fresa, maíz o tabaco.

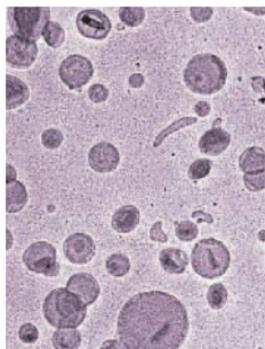


Fig. 6. Liposomas

www.quintbio.com/multivalency-liposomes.html

c) **Transgénesis mediante microinyección.** Es el procedimiento de uso mas restringido, tanto por su dificultad de ejecución como por las exigencias operativas. Utiliza un capilar de vidrio con el que se transfiere directamente el ADN a una célula receptora. Se ha utilizado en la obtención soja y arroz transgénicos.

Caracteres buscados en la transgénesis de plantas

Las resistencias (a infecciones, a insectos, a compuestos químicos, etc.) constituyen uno de los capítulos de mayor interés en estos procedimientos, igual que lo son también las modificaciones de determinados procesos en el ciclo biológico del fruto o la semilla, o algunos otros cambios que producen un valor añadido al cultivo.

I. PLANTAS RESISTENTES

I.1. Plantas resistentes a microorganismos patógenos

I.1.a. Plantas resistentes a virus: Se ha seguido fundamentalmente la estrategia de introducir un gen (o varios) del propio virus agresor contra el que se pretende crear resistencia o incluso de virus próximos relacionados (por ejemplo un gen que codifica para una proteína de la cápsida virica), que actúa como una vacuna. Así, se han transformado plantas como el tabaco, el tomate, la alfalfa, la patata o el arroz, haciéndolas resistentes a determinados virus de interés.

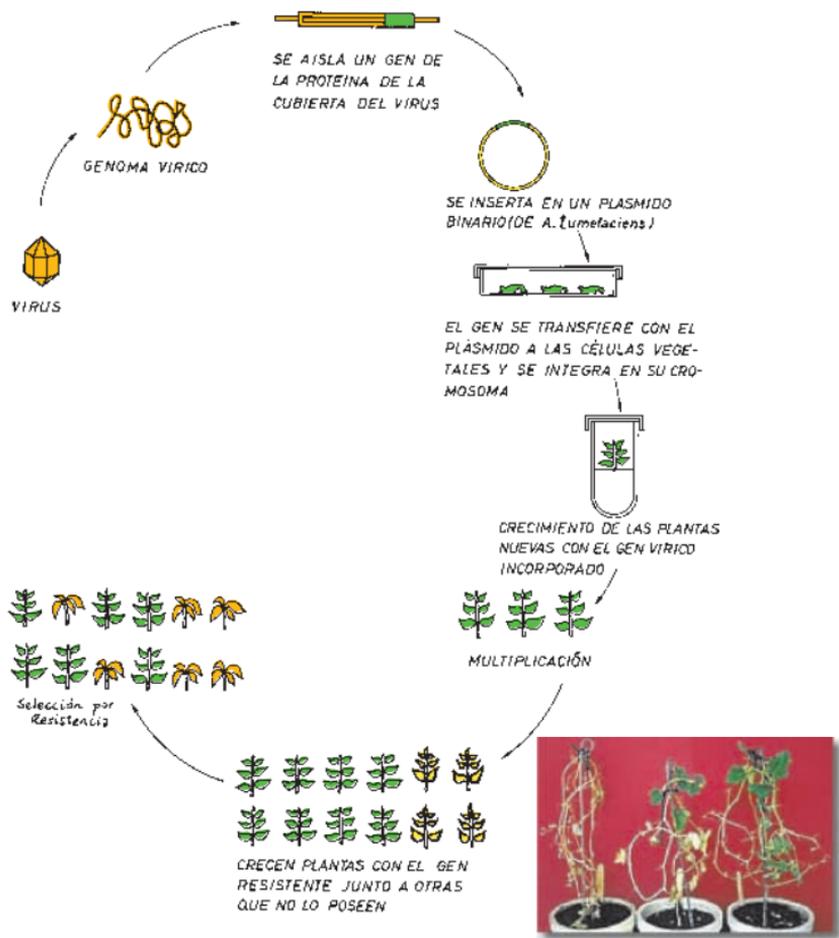


Fig. 7. 7.1. Procedimiento de obtención de plantas transgénicas resistentes a virus (www.nysaes.cornell.edu/ent/bcconf/talks/gonsalves.html) (modificado). 7.2. Plantas de melón transgénico resistentes a virus (www.inia.cl/biotecnologia/bioseguridad.htm).

I.1.b. Plantas resistentes a bacterias: Al igual que antes, la transformación de células vegetales por la entrada de genes procedentes de otras plantas e incluso de insectos o de animales, permite la expresión de proteínas (del tipo de las defensinas o sustancias equivalentes, como la cercopina B o la sarcotoxina, etc.) que confieren resistencia a algún tipo de bacteria.

I.1.c. Plantas resistentes a hongos: Se sigue la misma estrategia y mediante genes de distintas procedencias se introducen genes capaces de expresar proteínas (se denominan proteínas de respuesta, proteínas PR) con actividad enzimática (quitinasas o glucanasas) que degradan la pared del hongo y provocan su muerte. También se han ensayado genes capaces de producir proteínas con acción tóxica para los hongos, como es el caso de tioninas u osmotinas.

I.2. Plantas resistentes a insectos

El ataque por insectos representa uno de los aspectos más importantes del cultivo vegetal. Son numerosas las plagas de todo tipo de plantas producidas por las fases larvarias de muchos insectos o por los individuos adultos. Su interés es enorme desde el punto de vista económico (millones de dólares de pérdidas anuales incluyendo no solo la pérdida de cosechas sino los gastos necesarios para su control y prevención, por lo general de tipo químico). No puede olvidarse, tampoco, su repercusión social, por la merma en el abastecimiento ciudadano de alimentos de primera necesidad, en particular en países subdesarrollados.

Algunos de los resultados obtenidos mediante el uso de estas técnicas han sido incorporados y comercializados por grandes compañías multinacionales. Se han utilizado genes de bacterias que expresan proteínas que resultan tóxicas para los insectos. También se ha utilizado genes de plantas que expresan proteínas inhibitoras de enzimas digestivas de los insectos (por lo general proteasas y amilasas).

Un buen ejemplo de estos tipos de resistencia a insectos está mediado por una proteína producida por la bacteria *Bacillus thuringiensis*, denominada δ -toxina o toxina **Bt**, que resulta tóxica, selectivamente, para muchos insectos. De ella se han descrito diferentes variantes cada una de las cuales posee una acción diferente, como la **Cry I**, que sólo es tóxica para lepidópteros (mariposas), la **Cry III** que lo es para coleópteros (escarabajos) o la **Cry IV** para dípteros (moscas). A las plantas transgénicas que incorporan estos genes se las denomina **Plantas Bt**. Una variedad de maíz Bt resistente al “taladro” es uno de los ejemplos más conocidos y extendidos mundialmente.



Fig. 8. Maíz convencional (www.iaur.unl.edu/ianr/triad/wblarva.jpg) y maíz transgénico (Bt): planta (www.colortate.edu) y detalle (www.genie.it/utenti/b/biotech_ogm/pinte_insseticide.htm), resistente al taladro

Por este procedimiento se han obtenido diversos tipos de cultivos vegetales resistentes a insectos (Bt), como es el caso del tomate, tabaco, algodón, maíz, arroz, patata, soja o brócoli. Para evitar el desarrollo de insectos resistentes a la toxina, se han desarrollado plantas que solamente expresan la toxina en los tejidos susceptibles al ataque por el insecto.

Igualmente se pueden obtener plantas resistentes a insectos incorporando genes que dan lugar a proteínas que inhiben enzimas digestivas de los insectos. Por ejemplo, ciertos genes de guisantes expresan inhibidores de la tripsina o algunos otros genes del tomate o la patata dan lugar a inhibidores de proteasas, o genes procedentes de la alubia que producen inhibidores de α -amilasas, y todos ellos pueden insertarse en una planta susceptible al ataque de los insectos, haciéndola resistente a éstos. Así se han conseguido plantas de tabaco y arroz resistentes a insectos con los genes referidos antes procedentes del guisante.

I.3. Plantas resistentes a herbicidas

Las malas hierbas representan un factor negativo en la producción vegetal de muchísima importancia económica, pues se ha estimado que hasta el 10% de las cosechas del mundo se pierden como consecuencia de la contaminación de los cultivos vegetales con malas hierbas, y eso sin contar con que en su lucha y control se invierten impresionantes sumas de dinero (según algunos autores más de diez mil millones de dólares al año, sólo por costes de herbicidas químicos), con el inconveniente añadido de que la mayoría de estos productos no discriminan entre cultivos buenos y malas hierbas, lo que origina daños “colaterales” inevitables, muy importantes también.

Ante estos hechos, la tecnología del ADN recombinante se ha planteado desde hace años la posibilidad de obtener plantas transgénicas resistentes a los principios activos de algunos herbicidas químicos. Se pretende, por tanto, que mediante manipulación genética se incorporen genes de otras procedencias capaces de conferir a la planta en cuestión el carácter resistente al herbicida, aunque también se han manejado otras estrategias.



Fig. 9. 9.1. Soja transgénica resistente al glifosato junto a restos de soja convencional, muerta como consecuencia de tratamiento con el herbicida (www.geocities.com/.../contenido/divulgacion/transgen2.htm) . 9.2. Arroz resistente a herbicidas (www.da.gov.ph/12%20Steps/step1-2.html).

Un ejemplo de este tipo de actuaciones consiste en la incorporación de genes de resistencia al glifosato, al que degradan, procedentes de *Salmonella typhimurium* o *Escherichia coli*. De este modo se han obtenido plantas transgénicas resistentes a algunos herbicidas presentes en el mercado. El glifosato, principio activo (por ej.,) del herbicida Roundup®, inhibe la acción de una enzima de la ruta aromática denominada enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS). Del mismo modo otro gen, denominado *bar*, procedente de hongos del género *Streptomyces*, confiere resistencia de origen enzimático a la fosfinotricina, el principio activo de otros herbicidas comercializados (por ej., Basta®), que actúan inhibiendo la enzima glutamina sintetasa, que participa en la síntesis de aminoácidos y en la asimilación de nitrógeno. En ambos casos, la transgénesis que incorpora los genes de resistencia puede obtenerse tanto por la intervención del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*, como directamente, por biobalística. El procedimiento ha permitido obtener variedades resistentes a herbicidas en el caso del tabaco, tomate, colza, patata, alfalfa, trigo y arroz.

II. MADURACIÓN CONTROLADA DE FRUTOS POR TRANSGÉNESIS

El proceso de maduración de la mayoría de los frutos carnosos está condicionado por la producción de hormonas (gas etileno), que inducen a su vez la producción de enzimas (como la poligalacturonidasa), pigmentos y aromas que caracterizan la fruta madura. El gas etileno se utiliza para la maduración artificial de frutos recogidos verdes a consecuencia de los tiempos que imponen los canales comerciales y el propio tiempo de vida útil del fruto maduro.

Mediante una técnica que utiliza un ARN antisentido (una secuencia de ARN de sentido contrario -3'-5'- que se empareja con el normal e impide su traducción en los ribosomas) de origen sintético, se ha conseguido suprimir la expresión de poligalacturonidasa, retrasando el ablandamiento natural de los tomates (la enzima es responsable del ablandamiento y senescencia del fruto maduro). El primer tomate transgénico comercializado, el tomate **Flavr-Savr** (tomate MacGregor), pertenece a este grupo y su comercialización fue la primera autorizada por la FDA² de los Estados Unidos, en mayo de 1994. Un tomate de estas características posee ventajas comerciales evidentes puesto que se puede controlar su maduración evitando de este modo tener que llevar a cabo la recogida "en verde" de la planta, ampliando, también, el tiempo de comercialización y, sobre todo, como los tomates se recogen maduros, poseen aroma y sabor superiores a los normales y se pueden comercializar directamente.

Esta misma técnica se ha utilizado, también, para conseguir un tipo de soja que contiene un 80% e incluso más, de ácido oleico (la normal contiene un 20%) mediante la inhibición de la enzima oleato desaturasa.

² FDA: Food and Drug Administration (Agencia de la Administración Federal de los EE.UU. para los Alimentos y los Medicamentos)



Fig. 10. 10.1. Tomates (Flavr-Savr)

www.public.iastate.edu/~cford/101Biotechnology.htm . 10.2. Melones transgénicos, de maduración controlada, mediante la inserción de un gen antisentido de la ACC oxidasa (www.cnrs.fr/SDV/pech.html)

Se han descrito, igualmente, otras variantes de intervención transgénica que actúan sobre la síntesis de la hormona que induce la maduración (etileno), controlando la supresión de las enzimas 1-aminociclopano- 1-carboxilato sintasa u oxidasa (ACC-sintasa ó ACC-oxidasa), con efectos similares. De este modo se han obtenido tomates y melones transgénicos de maduración controlada.

III. PLANTAS DE ORIGEN TRANSGÉNICO CON VALOR AÑADIDO

III.1. Vacunas comestibles

Las denominadas “vacunas comestibles” podrían representar una alternativa válida a los procedimientos convencionales de obtención y aplicación de vacunas. Mediante la tecnología del ADN recombinante, puede inducirse a una planta a producir (expresar) una determinada proteína antigénica, cuyo origen está en el agente patógeno, capaz de inducir la respuesta protectora buscada cuando el alimento (la planta, o su fruto o su semilla) son ingeridas por el hombre o los animales.

Hasta la fecha, se han obtenido ya algunos éxitos en este sugerente campo mediante la inducción de proteínas del virus de Norwalk (un agente productor de diarreas víricas en el hombre) en tomates y patatas, igual que en el caso de la subunidad B de la enterotoxina de *E. coli* (una de las principales causas de diarrea humana y animal) o de *Vibrio cholerae* (el agente del cólera humano). También se ha descrito la producción de lechugas y zanahorias transgénicas que expresan un antígeno vacunal del virus de la hepatitis B del hombre (una proteína de la cubierta del virus) y, recientemente, investigadores australianos han logrado inmunizar ratones frente al virus del sarampión al introducir en su alimentación un extracto de tabaco transgénico, modificado para expresar proteínas del virus. En el mismo sentido, en los EE.UU., se ha registrado recientemente una patente sobre un maíz transgénico, que produce una proteína que actúa como anticuerpo frente al virus del herpes humano.

VACUNA COMESTIBLE

Agrobacterium tumefaciens

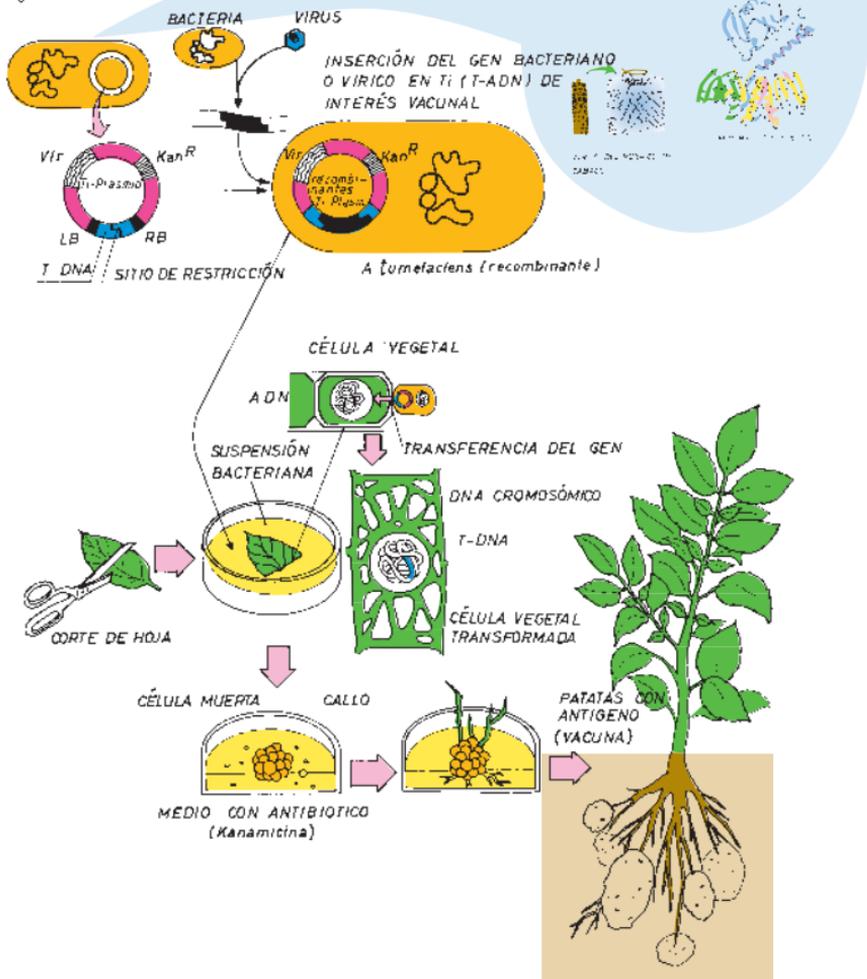


Fig. 11. Procedimiento para obtención de vacunas "comestibles"

La transgénesis en esos casos se consigue por los mismos procedimientos descritos antes, en particular por el uso del vector plasmídico Ti de *A. tumefaciens*.

III.2. Alimentos con vitaminas y alimentos hipoalérgicos

Es bien sabido que no existen alimentos completos, afirmación válida en particular en el caso de los vegetales, de tal modo que la ingesta tiene que complementarse necesariamente con varios de ellos para poder satisfacer así todas las necesidades del ser vivo (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales, etc.). La posibilidad de introducir genes que expresan alguno de los elementos en que es deficiente un alimento particular, puede resolver problemas tradicionales vinculados a grandes áreas geográficas del planeta. Es lo que sucede, por ejemplo, con el caso del arroz, que constituye la dieta básica (sino la única) de millones de individuos en todo el mundo y en los que su tradicional deficiencia en vitamina A es causa de graves problemas de salud, particularmente los que se refieren al sentido de la vista (ceguera).

Se ha descrito la obtención de arroz transgénico que incorpora genes que expresan β -caroteno (provitamina A) y que resuelven este problema. El arroz adopta un tono tostado que



Fig. 12. Arroz dorado que incorpora genes para provitamina A (www.fbae.org/Resource_Centre/Artides/golden_rice.htm) y tomates modificados para la presencia de vitamina A (www.m-wv.de/kontrovers/gentechnik/flavrsavr/html).

justifica su denominación de “arroz dorado”³. También se ha descrito la producción de tomates en los que se ha incorporado un gen que triplica su contenido en β -caroteno. Sobre esta base se ha diseñado un proyecto internacional para conseguir el incremento en vitaminas en el caso de varios cereales, legumbres o tubérculos, como el trigo, maíz, alubias o mandioca, que representan elementos fundamentales de la dieta de grandes poblaciones humanas. Este tipo de alimentos “reforzados” se denominan, también, “alimentos”.

Algunos individuos no pueden consumir algunos productos debido a su hipersensibilidad a determinados componentes, que les producen fenómenos alérgicos. En este sentido, en el caso del arroz, se ha descrito la obtención de una variante por transgénesis, que reduce drásticamente la expresión de una albúmina (proteína) de 16 kDa (kilodaltons), muy alergénica, causa de problemas de hipersensibilidad en algunos individuos. También, en el caso de la soja, una proteína denominada P34, conocida por su capacidad alergizante, ha sido suprimida mediante la inactivación del gen que codifica para ella; a tal efecto se ha utilizado un procedimiento denominado “silenciamiento de genes” consistente en insertar copias extra del gen que codifica para la proteína P34, a lo que la planta responde con la represión del mismo, al interpretar que se trata de una replicación excesiva originada por una infección vírica.

III. 3. Modificación de la calidad de alimentos mediante la aplicación de técnicas de transgénesis

III.3.1. Modificación de la calidad nutritiva

Son varios los estudios en los que se ha logrado mejorar la calidad de la composición de algunos alimentos tradicionales. Por lo general se refieren a alguno o varios de los principios inmediatos (carbohidratos, proteínas o grasas).

³ El tejido del arroz produce geranyl-geranyl difosfato, un precursor de la síntesis de carotenoides. Un grupo de científicos de Basilea (Suiza) han transferido al cultivo los genes de dos enzimas denominadas fitoeno sintetasa (procedente de *Narcissus* sp) y fitoeno desaturasa (de *Erwinia uredovora*) que permiten al arroz producir (en el grano) β -caroteno a partir del licopeno.



Fig. 13. Nuez del Brasil, con un alto contenido en proteínas ricas en metionina, (www.waynesword.palomar.edu/ecoph1.htm) , alfalfa (www.healthfairy.com/herbs.asp?ID=1) y trébol (www.sarahsarchangels.com/herbs/herbs.html).

Por ejemplo, si se refiere a las **proteínas**, está el caso del gen de la albúmina 2S de la nuez del Brasil, particularmente rica en metionina (uno de los principales aminoácidos azufrados) que se ha utilizado como donante para transferirlo mediante transgénesis, a soja, colza y alubias; no obstante, las ventajas iniciales derivaron hacia inconvenientes relacionados con su tendencia hipersensibilizante (generación de alergias), que desaconsejaron su uso en la dieta humana, derivándose en exclusiva hacia la alimentación animal. También se ha descrito la introducción de genes que codifican para otras proteínas ricas en aminoácidos, como lisina, tirosina y cisteína, igualmente de gran importancia nutritiva. Finalmente, se han descrito variedades de alfalfa y trébol que expresan albúmina 2S como consecuencia de la incorporación de genes procedentes de semillas de girasol; su incorporación en la dieta de ovejas produce un aumento muy evidente de la productividad y de la calidad de la lana.

En el caso de los **lípidos**, se han incorporado genes que modifican la composición de los ácidos grasos que forman parte de triacilglicérols y fosfolípidos, dos de los tipos de grasas de mayor importancia biológica. Igual ocurre en el caso de algunos polisacáridos como el almidón, modificado mediante transgénesis, tanto en su calidad como en su cantidad, por parte de algunas plantas.

III.3.2. Modificación de la calidad, que afecta a situaciones clínicas en el consumidor.

No solamente las técnicas de transgénesis permiten mejorar el equilibrio de los distintos principios en la dieta, sino que, convenientemente modificados (como ya se ha visto en el caso de las vacunas), los alimentos transgénicos pueden ayudar a prevenir o corregir situaciones críticas de determinados pacientes, particularmente de niños, sometidos a condiciones ambientales y familiares poco favorables. En este sentido es de destacar, por ejemplo, que recientemente un equipo de investigadores brasileños haya logrado transformar plantas de maíz para que produzcan hormona humana del crecimiento (HGH). En la actualidad, el coste de producción de la HGH, que se utiliza para tratar a niños con problemas de crecimiento, puede llegar a alcanzar los 20.000 \$ por gramo, mientras que mediante técnicas de transgénesis en vegetales, los costos pueden reducirse drásticamente (los primeros datos estimativos calculan que a partir de una tonelada de maíz transgénico podrían extraerse no menos de 250 gr de HGH). El mismo equipo comunicó el éxito en la obtención de otras plantas de maíz OMG que contienen un gen que codifica una proteína vírica capaz de eliminar el agente causante de la coccidiosis aviar (*Eimeria* sp), lo que abre una interesante vía de prevención de la coccidiosis aviar a partir de la alimentación de estos animales.



Fig. 14. Un niño que no crece normalmente, por falta de hormona del crecimiento

www.pediatrionaldia.cl/pb/nino_no_crece.htm

EL PRO Y EL CONTRA DE LOS ALIMENTOS TRANSGÉNICOS. CONSIDERACIONES

La introducción de este tipo de alimentos en el mercado de consumo ha generado una ardiente polémica por parte de las organizaciones ecologistas desde las que se ha movilizado una gran cantidad de argumentos en su contra. En el campo contrario se sitúan muchos científicos, incluyendo biólogos moleculares, ingenieros y otros técnicos, para quienes las herramientas de que se dispone en la actualidad garantizan más que nunca el proceso de modificación genética que da lugar a caracteres nuevos en alimentos tradicionales. Por otra parte, su introducción en los niveles ordinarios de cultivo, permitiría aumentar la capacidad de producción hasta los niveles necesarios para abastecer la creciente demanda mundial, sobre todo en lo que se refiere a la población de los países más desfavorecidos. En el tercer ángulo de este hipotético triángulo se sitúan las empresas multinacionales, para quienes el interés principal (aunque no sea el único) es, naturalmente, responder con beneficios ante sus accionistas. Probablemente todas las partes tengan parte de razón; en cualquier caso, según se ha dicho, el actual dominio de los Estados Unidos en este campo se facilita cuando se ponen en cuestión la investigación o el desarrollo de nuevos productos transgénicos en Europa. En las líneas que siguen pretendemos recopilar, sobre cuatro puntales, los beneficios más evidentes de esta tecnología, así como los principales inconvenientes apuntados principalmente por las organizaciones ecologistas (aunque no sólo) a quienes hemos hecho mención.

Cualquiera que sea el caso, aunque sólo exista la sospecha de la existencia de un solo efecto negativo sobre cualquiera de los aspectos que se han señalado, se ha de resolver el interrogante mediante análisis exhaustivos y rigurosos del producto, cualquiera que sea el final al que estos conduz-

can. En el mejor de los casos, el consumidor debe tener la oportunidad de conocer qué es lo que consume, por lo que se hace necesario desarrollar y adaptar métodos y procedimientos que permitan poner de manifiesto el carácter transgénico de un alimento de consumo humano y que dicha información esté claramente dispuesta en la etiqueta que define el producto.



MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ALIMENTOS TRANSGÉNICOS

Se pueden considerar dos sistemas generales que ponen de manifiesto la condición de transgénico de un alimento bajo sospecha. Por un lado, se dispone de procedimientos que detectan las nuevas proteínas expresadas por el/los transgenes introducidos y, por otro, existen métodos que identifican el ADN correspondiente al gen o genes introducidos.

1 Métodos que detectan las proteínas nuevas

En primer lugar uno de los procedimientos de estudio más comunes es la **técnica ELISA**, un tipo de enzimo-inmuno-análisis en el que un anticuerpo conocido frente a la proteína transgénica en investigación, se pega (se adhiere) a la microplaca en la que se lleva a cabo el análisis. La muestra se agrega a los pocillos de la placa y en el supuesto de que la proteína transgénica esté presente, será reconocida y captada por el anticuerpo específico. Un lavado del material retira cualquier elemento que por su inespecificidad no haya sido reconocido por el anticuerpo. Posteriormente se añade un nuevo anticuerpo (secundario) que se une específicamente al primero y al que va fijada una enzima. La última etapa consistirá en la adición del sustrato específico de la enzima, que en unión con aquella desarrolla color o fluorescencia, que son medidos por un espectrofotómetro especial. El estudio puede hacerse cuantitativo si se compara el color obtenido con el que se consigue con concentraciones conocidas de la misma proteína. El procedimiento se puede automatizar con lo que pueden llevarse a cabo un número importante de reacciones en un corto espacio de tiempo.

Cuadro 2. Resumen de los puntos principales que caracterizan de salud pública

Consideraciones	Agricultura	Medio Ambiente
Beneficios	<p>Mayor eficacia en la mejora de los cultivos</p> <p>Plantas resistentes a organismos perjudiciales, microorganismos patógenos, herbicidas o plaguicidas y a climas hostiles</p>	<p>Independencia de uso de fitosanitarios, a corto plazo (en el algodón transgénico R, se utiliza un 21% menos de insecticidas)</p> <p>Innecesario uso de insecticidas en el maíz Bt</p>
Riesgos potenciales e inconvenientes	<p>Riesgo del salto de la barrera interespecífica (transferencia de genes)</p> <p>Desarrollo de resistencias en insectos y patógenos o en las malas hierbas</p> <p>Posibilidad de contaminación genética de cultivos próximos (transmisión horizontal de genes mediada por polinización)</p> <p>Pérdida progresiva de semillas tradicionales</p> <p>Dependencia progresiva de multinacionales</p>	<p>Incremento progresivo de la contaminación química (incremento de uso de plaguicidas químicos)</p> <p>Contaminación del suelo por toxina Bt</p> <p>Contaminación genética y riesgo de desaparición de plantas silvestres originales</p> <p>Atentado contra la biodiversidad</p>
Evidencias y datos. Comentarios	<p>Hasta la fecha nadie ha encontrado pruebas concluyentes de supermalezas. Un estudio de diez años no permitió descubrir anomalías</p>	

a los OMG desde el punto de vista agrario, del medio ambiente, y social.

Salud Pública

Social

Posibilidad de producir y disponer de más alimentos y con mayor valor nutritivo (ej. Vitamina A) o con propiedades terapéuticas (proteínas para el tratamiento de enfermedades humanas o animales) o preventivas (vacunas)

Alimentos de mayor calidad o apetecibilidad

Posibilidad de obtener mayor y mejor cantidad de alimentos. Lucha contra el hambre en el mundo

Contaminación química

Sensibilización y alergias frente a proteínas nuevas

Resistencias antibióticas

Se propician patentes que crean monopolios peligrosos en relación con el material genético (es patrimonio de todos)

La agricultura biotecnológica compromete un “desarrollo sostenible”

Escasas evidencias en relación con la transferencia de resistencias. En cualquier caso, conveniencia de un dispositivo de vigilancia

Otras alternativas de impacto social (un mejor reparto de los recursos)

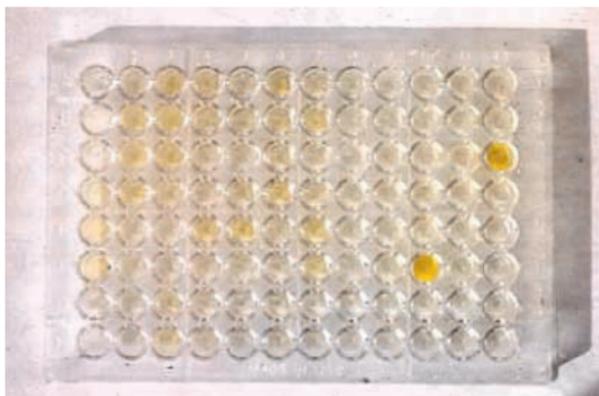


Fig. 15. Placa de ELISA

El denominado método de la **banda de flujo lateral** es un procedimiento que se ejecuta sobre una lámina de vidrio rectangular alargada, en uno de cuyos extremos se fija el anticuerpo específico que reconoce la proteína transgénica (anticuerpo de captura), mientras que el anticuerpo secundario (marcado) se dispone en el extremo opuesto. La muestra se adiciona en este último extremo y se hace discurrir en la dirección contraria. En caso positivo, al coincidir el anticuerpo captura con el marcado en presencia de la proteína transgénica, se forma una banda coloreada. Se dispone una segunda banda de anticuerpo captura, que sirve de control de reacción.

2 Métodos que detectan el/los transgenes

La **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** sirve para la detección directa del transgén. Se pueden utilizar *primers* (oligonucleótidos) para cualquiera de los elementos que forman parte de la secuencia. Mediante un termociclador se consigue la amplificación de los fragmentos, que se separan en un gel de agarosa en razón de su tamaño. La tinción con un com-

puesto que fluoresce cuando se expone a la luz ultravioleta permite identificar el fragmento de ADN buscado con facilidad. Una variante de esta técnica, la **PCR cuantitativa** se ha revelado como un instrumento poderoso en la detección de OMGs, pues permite identificar en tiempo real la amplificación de un genoma de interés objeto de búsqueda. Casi todas las variantes de este método se basan en la utilización de una sonda de ADN, complementaria de una parte del ADN que se pretende amplificar, la cual va adherida a una molécula fluorescente y a otra inhibidora, ésta última denominada '*quencher*'; de este modo, solo en el caso de que la sonda se desplace de su sitio por acción de la ADN-polimerasa, la molécula fluorescente se libera y fluoresce al ser estimulada por un láser. Simplemente, la cuantificación de la fluorescencia en cada ciclo de la PCR es proporcional a la cantidad de ADN que se está amplificando y ofrece, por tanto, una medida indirecta de la misma.

Por último, un ***Southern Blot*** es, igualmente, una técnica muy útil para la detección de genes extraños. A tal efecto, después de extraer el ADN total de la planta en la que se busca el transgen, se fragmenta con enzimas de restricción y se separa en un gel de electroforesis por razón de su tamaño molecular. Después se procede a la transferencia a una membrana de nailon (o semejante) y ya solo queda revelar la presencia del gen buscado, para lo cual se hace uso de una secuencia complementaria previamente diseñada con ese fin, que ha sido marcada con un isótopo radiactivo. Finalmente sólo queda detectar el compuesto radiactivo, que permanece en la membrana si está presente el gen problema, puesto que de forma contraria será eliminado.

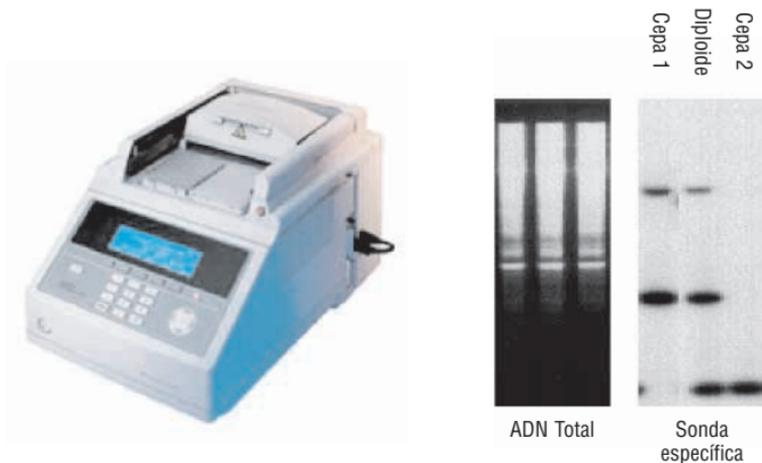


Fig. 16. Termociclador para PCR (www.the-Scientist.com) y *Southern-Blot* (medlib.med.utah.edu/block2/biochem/Formosa/menu.html)

SITUACIÓN ACTUAL DEL CULTIVO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS

Como se señaló al principio, desde 1992 en que se llevaron a cabo los primeros cultivos transgénicos de tabaco en China, se ha recorrido un camino espectacular. Según datos disponibles, que comenzaron a hacerse públicos en 1996, para el año 2002 la superficie total cultivada en el mundo de cultivos modificados genéticamente ascendía ya a más de 58,7 millones de ha, ciertamente una extensión que supera con creces la superficie total de nuestro país, y que supone un incremento del 12% sobre las cifras del año anterior y el sexto año consecutivo con crecimientos de dos dígitos.

En la actualidad, prácticamente el 70% de la superficie cultivada con plantas modificadas genéticamente pertenece a los Estados Unidos y le sigue Argentina con algo más del 23%, situándose Canadá en tercer lugar con el 7%. Un 1% adicional corresponde a China y el resto se reparte en orden decrecien-

te entre Sudáfrica, Australia, Rumanía, México, Bulgaria, España, Alemania, Francia y Uruguay. Si el conjunto se divide entre lo que podría diferenciarse como países “industrializados” y “no industrializados”, la relación sería 3:1, aproximadamente (75%:25%).

Los cultivos transgénicos más comunes son la soja, el maíz, el algodón y la colza, cuyo conjunto representó más del 20% del total de la superficie cultivada dedicada a estos cuatro productos. De forma relativa, alrededor del 40% del total de soja cultivada es transgénica, casi el 10% lo es en el caso del maíz, el 16% en el caso del algodón y alrededor del 11% en el caso de la colza (las cifras mundiales de cultivos del año 2000, incluyen 72 millones de ha de soja, 140 de maíz, 34 de algodón y 25 de colza).

Según el tipo, el porcentaje de la superficie total dedicada al cultivo de transgénicos fue del 58% en el caso de la soja, del 23% en el caso del maíz, del 12% en el caso del algodón y del 6% en el caso de la colza. Finalmente, si es el carácter el tipo de parámetro utilizado, los cultivos resistentes (tolerantes) a herbicidas ocupan la mayor representatividad relativa, con un 74% del total, seguidos de los cultivos resistentes a insectos con un 19% y un 7% adicional en el que ambos caracteres se superponen en los mismos cultivos.

Los productos OMG fueron aprobados por primera vez para el consumo humano en los Estados Unidos en 1994. Según ha sido señalado, más del 60% de la comida que se ofrece en los comercios norteamericanos se ha producido utilizando ingredientes procedentes de cultivos OMG, sin que hasta la fecha se hayan asociado específicamente problemas de salud relacionados con la ingestión de alimentos derivados de estos cultivos.

En España se cultivó por primera vez en 1998 un maíz Bt resistente a dos especies de lepidópteros (taladros) de gran

interés económico en toda el área Mediterránea. En nuestro país se ha calculado el cultivo de unas 20.000 ha de maíz Bt incluyendo cultivos restringidos y experimentales (unas 50 ha), habiéndose señalado que de estos últimos la mayor cantidad se sitúa en el periodo 1993-99 en las comunidades de Andalucía (155 ha), Castilla y León (78 ha), Cataluña (48 ha), Castilla La Mancha (42 ha) y Aragón (42 ha). En marzo de 2003 el Ministerio de Agricultura ha autorizado el cultivo de cinco nuevas variedades de maíz transgénico Bt que se suman a las anteriores.

Entre el Ministerio de Medio Ambiente y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas existe un convenio de colaboración para evaluar los potenciales riesgos derivados del cultivo de maíz Bt en España, entre los que figura un seguimiento de la evolución de la resistencia de los insectos al maíz, con el fin de detectar cualquier tipo de cambio mediante la realización de dos muestreos anuales, sin que hasta la fecha se tenga constancia de pérdida de eficacia del maíz Bt.

TRANSGÉNESIS EN ANIMALES (animales transgénicos)

En el caso de los animales, la situación no admite comparación con las plantas, pues los planteamientos y objetivos que se persiguen son completamente diferentes. En este caso, a los problemas de tipo científico o técnico (en los mamíferos los genes tienen que ser inyectados directamente en el núcleo del óvulo fertilizado, incorporándose en los cromosomas, implantándose después el cigoto en hembras receptivas), se suman otros de tipo ético, social o sanitarios, que son particularmente complejos.

Puede estimarse como fecha de comienzo de la aplicación de esta tecnología al mundo animal el año 1980 cuando Gordon, Rudle y colaboradores produjeron el primer ratón transgénico mediante la inyección de ADN procedente de un ratón en el pronúcleo de un cigoto de otro animal de la misma especie. En 1982 se consiguió expresar en ratones el gen de la hormona de crecimiento de la rata, obteniéndose ratones gigantes cuyo tamaño fue superado cuando se expresó el gen de la hormona de crecimiento de origen humano.

En la lista se incorporaron después conejos, ovejas y cerdos en los que de igual modo se trabajó con la hormona del crecimiento, pero en ningún caso se obtuvieron aplicaciones útiles desde el punto de vista zootécnico. El primer toro transgénico fue obtenido en Holanda mediante la inclusión de un gen de lactoferrina que aumentaba sus defensas contra las infecciones microbianas inespecíficas.

Hasta la fecha, la lista de animales en los que se ha culminado con éxito experimentos de transgénesis incluyen, entre los mamíferos, el ratón, la rata, el conejo, el ganado bovino, el cerdo, la oveja y la cabra, mientras que entre las aves se incluyen el pollo (la gallina) y la codorniz. Entre los peces se han cosechado éxitos importantes y la lista de especies en las que se han realizado transgénesis, incluye: el salmón, la trucha, la tilapia, la carpa, el pez gato, el pez medaka y la dorada.

Como en el caso de los vegetales, entre los animales, la transgénesis ha buscado como fines importantes, por un lado, la mejora de los caracteres productivos de los animales y de la calidad de sus producciones (en particular el crecimiento), la resistencia a enfermedades (especialmente mamitis en el caso de los rumiantes) y, de particular interés se consideran también, el desarrollo de modelos animales para el estudio de enfermedades humanas o para el estudio de enfermedades de los animales domésticos o útiles de gran valor, el desarrollo de animales transgénicos como donantes de órganos en prácticas de trasplantes (xenotrasplantes) y, finalmente, el desarrollo de

animales transgénicos con el propósito de producir proteínas “terapéuticas” de alto valor para el ser humano, en una palabra, disponer de “granjas farmacéuticas o moleculares” a partir de animales con modificaciones que les permiten producir sustancias cuya alternativa actual es un tipo de síntesis química muy compleja y costosa.

Mediante transgénesis con genes de la hormona del crecimiento se han obtenido vacas con mayor producción cárnica, o cerdos a los que se han incorporado múltiples copias del gen de la hormona del crecimiento bovina, que no solo crecen más y más rápido en el periodo crítico de su vida (en las primeras semanas), sino que sorprendentemente producen de forma paralela, menos grasa. El mejor ejemplo de la trayectoria buscada en el caso de los animales está representado por el de la oveja “polly”, la denominada “segunda parte” de la televisiva oveja “dolly”, en la que se superpusieron ambas condiciones (clónica y transgénica) permitiendo la obtención de ese doble fin: obtener clones de animales superproductores. Sin embargo, en todos los casos descritos hasta la fecha, la técnica utilizada es, por el momento, muy compleja y escasamente eficaz, además de otros inconvenientes de naturaleza ética o social.

Se han conseguido éxitos en la transgénesis orientada a producir animales resistentes a cuadros clínicos específicos, como es el caso de la mamitis en las ovejas, o (recientemente) se ha señalado la posibilidad de que este procedimiento permita la obtención de rebaños resistentes al *scrapie* ovino (tembladera ovina).

Como se indicó antes, en el caso de los peces se han obtenido, hasta ahora, los éxitos más importantes, en particular mediante la introducción de copias múltiples del gen de la hormona de crecimiento de la trucha en carpas y salmones, obteniéndose animales con mayores tallas y en mucho menor tiempo que el necesario para producir un adulto comercializable.

En investigación básica son muy populares los animales “*knock out*” (animales k.o.) en los que mediante esta tecnología se suprime el gen que codifica para algún factor que representa un inconveniente particular, como es el caso de la β -globulina en las vacas (cuya presencia en la leche representa un obstáculo importante para algunos consumidores enfermos), o la producción de ratones k.o. en los que se ha anulado la expresión del gen propio para la PrP^c (proteína prión normal o celular) e introducido mediante transgénesis el gen que codifica para la PrP^c del hombre o del bovino (ratones humanizados o ratones bovinizados), excepcionalmente útiles en el caso del estudio de enfermedades producidas por priones, como la encefalopatía espongiforme bovina o la variante de la enfermedad de Creutzfeldt Jakob, en el hombre, etc.

Igualmente se han producido mediante transgénesis animales capaces de actuar como donantes de órganos para otros individuos de distinta especie, con el propósito de servir en el futuro de fuente de órganos para el hombre. En el periodo 1964-95 se recogen en todo el mundo experimentos de 32 xenotrasplantes que incluyen, fundamentalmente, riñón, corazón, hígado y médula ósea de chimpancé y mandríl. En este lugar debe hacerse referencia especial a los estudios realizados mediante transgénesis en el cerdo con genes de origen humano que permitan en el futuro (¿presente?) posibles trasplantes de hígado, por ejemplo. En cualquier caso, la respuesta de la clase médica ha sido aquí particularmente ardiente, sumando a las reservas éticas y sociales (ya comentadas) otras que se refieren al plano estrictamente sanitario, como la posibilidad de introducir en el hombre agentes de zoonosis desconocidos e incluso la aparición (por reactivación) de posibles agentes nuevos.

Finalmente, el interesante capítulo que se refiere a los animales transgénicos como posibles integrantes de granjas farmacéuticas tienen, por el momento, su mejor expresión en el

caso de vacas, ovejas o cabras que producen lactoferrina, factor antihemofílico (factor IX de coagulación de la sangre) o activador tisular del plasminógeno (AtPH) para el hombre (particularmente en cabras). De igual modo se han conseguido también ovejas transgénicas que producen α -1-antitripsina, muy útil para el tratamiento del enfisema hereditario, con resultados espectaculares, de hasta 1 mg/ml de leche y registros de hasta 63 mg en la primera semana de producción. A título de ejemplo, en un reciente seminario sobre “animales transgénicos”, se ha comunicado que las autoridades de Nueva Zelanda han autorizado (con condiciones, a la empresa AgResearch) el desarrollo comercial de vacas transgénicas que expresen proteínas funcionales de otras especies, igual que animales transgénicos, con el único propósito de llevar a cabo el estudio de la función y modo de acción de determinados genes de interés, en particular procedentes de otras especies como el hombre, ratones, ovino, caprino, o del mismo bovino, limitando el material genético de origen vírico o de origen bacteriano. La autorización implica la caracterización rigurosa del material genético y la realización de exhaustivos controles en todas las fases del proceso productivo e investigador.

Fig. 17. 17.1. La oveja Tracy, en la que se insertó el gen humano de la α -antitripsina que se expresa en la leche (en el tratamiento del enfisema humano) (www.anth.org/ifgene/history.htm). 17.2. Dos terneros clonados de vacas frisonas de 2 años, Cooky y Cream

(www.bcas.net/.../Biodiversity/August2002/15%20to%2030.htm).

17.3. Ratones transgénicos

(www.csic.es/hispano/ciclo1/2002/anexo1.htm). 17.4. Cerdos transgénicos

(www.missouri.edu/~news/Pratherphotos.html).

17.5. Mono transgénico

(www.iepe.org/econoticias/enero2001/monotransg.htm). 17.6. Acuicultura

transgénica (www.nps.ars.usda.gov/.../contributions/Chenrev.htm).

17.7. salmones transgénicos (www.staff.science.nus.edu.sg/).

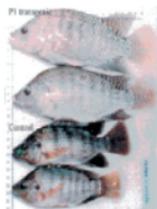
17.8. Carpa transgénica (www.bulletin.ac.cn/ACTION/2000102601.htm)



Siluro de canal



Tilapia



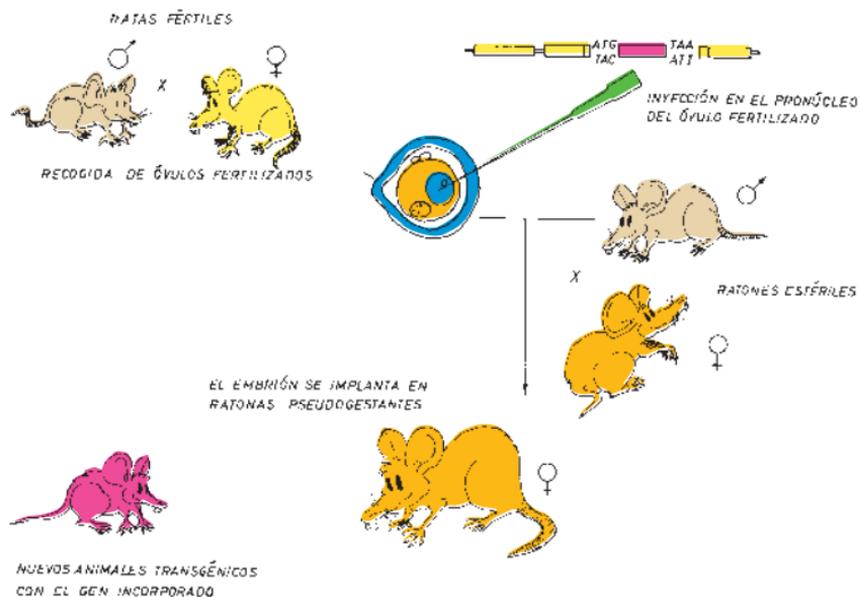


Fig. 18. Procedimiento para la obtención de animales (ratones) transgénicos (www.141.217.91.198/transgenic.html) (modificado)

MICROORGANISMOS TRANSGÉNICOS

En la fabricación de **pan**, las cepas tradicionales de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* degradan los carbohidratos presentes en la masa de harina en un orden que se inicia con la sacarosa, al que siguen después la glucosa y la fructosa. Solamente cuando se han utilizado los azúcares anteriores, se inicia la degradación de maltosa que, por otra parte, representa el principio mayoritario. Esto supone, en términos de tiempo, un gasto considerable. Para reducir estos costes se han obtenido cepas de levaduras transgénicas que son capaces de iniciar la degradación de los carbohidratos de la masa de panadería por la maltosa, con el resultado de un aumento sustancial de la capacidad fermentativa y de la producción de CO₂ lo que representa, no solo una reducción del tiempo de fermentación, sino también la obtención de un tipo de pan más esponjoso y apetecible.

Igualmente se han obtenido cepas de *S. cerevisiae* transgénicas mediante la incorporación de un gen de *Aspergillus oryzae* capaz de expresar una enzima α -amilasa. Ello se traduce en la obtención de un producto con mejores características organolépticas.

En el caso del **vino** se han modificado levaduras mediante la inserción del gen que codifica para L-lactato deshidrogenasas (procedentes de *Lactobacillus casei*), capaces de llevar a cabo un tipo de fermentación láctica y alcohólica que permiten obtener vinos con un incremento de acidez. El problema contrario, de vinos con acidez excesiva, se puede resolver mediante la fermentación maloláctica producida por bacterias lácticas, como *Oenococcus oenos*, en la que se produce la descarboxilación del ácido L-málico a L-láctico por intervención de una enzima málica; recientemente se ha construido una levadura que expresa conjuntamente el gen de *Lactococcus lactis* (que codifica para la enzima málica) y un gen de la levadura *Schizosaccharomyces pombe* (que codifica la permeasa del ácido málico), siendo capaz el microorganismo de llevar a

cabo una fermentación maloláctica en un tiempo de cuatro días (en mostos con un contenido de 4,5 g/ litro de malato).

Igual ocurre en el caso de los aromas vínicos, en particular el aroma afrutado, que dependen de la presencia de determinados terpenos que se encuentran en una fracción libre (que al ser volátil proporciona aroma) y otra ligada a restos de la pared del grano de uva por enlaces glucosídicos, incapaz de contribuir al aroma a no ser que se degraden los enlaces mediante glucosidasas. Esto se consigue mediante transgénesis con genes procedentes de hongos filamentosos y levaduras oxidativas, con resultados satisfactorios. También se ha insertado en levaduras un gen de *Fusarium solani* que codifica una pectato liasa, muy útil para eliminar problemas de filtrabilidad de los mostos.

En el caso de la producción de **cerveza** se ha incorporado a las levaduras genes procedentes de *Trichoderma reesei* o de *Tr. longibrachiatum* que expresan una enzima β -glucanasa que resuelve un problema importante de la fabricación de la cerveza como es el representado por la colmatación y acúmulo de β -glucanos procedentes de la cebada, que exige la limpieza de los tanques y un importante gasto desde el punto de vista técnico.

Finalmente, se han obtenido también cepas de levadura de cerveza que portan un gen de *S. diastaticus* que expresa una glucoamilasa, la cual se caracteriza por degradar las dextrinas y el almidón, responsables de la gran carga energética de la cerveza (especialmente de algunos tipos) obteniéndose de esta manera un tipo de cerveza baja en calorías.

En la actualidad se investiga, también, cómo obtener **alcohol procedente de maíz**, no a partir de la fermentación del almidón del grano, sino a partir de restos de hojas, cañas y otros residuos fibrosos que permanecen en el campo después de la cosecha, mediante la utilización de una levadura modificada genéticamente que, además de la glucosa, también degrada la xilosa.

Los microorganismos modificados genéticamente (MMG) han sido una fuente importante de alternativas vacunales a los productos clásicos. La modificación genética de la estructura microbiana que implica atenuación de las cepas salvajes, virulentas, del microorganismo de prueba, es un procedimiento investigado desde hace años con el propósito de obtener antígenos más eficaces y seguros. La Unión Europea ha sido hasta la fecha muy rigurosa y restrictiva en relación con la autorización de productos vacunales manipulados genéticamente, exigiendo controles exhaustivos hasta asegurar la falta de riesgo para el medio ambiente y la posibilidad de identificar su uso mediante cambios detectables en el laboratorio, como ocurre por ejemplo, en el caso de las vacunas contra la enfermedad de Aujeszky y pocos casos más. En el caso del hombre, recientemente se ha comunicado el comienzo de experiencias clínicas con una vacuna contra la diarrea producida por *E. coli* a base de microorganismos atenuados que mantienen su capacidad de colonización intestinal, pero que carecen de la patogenicidad propia.

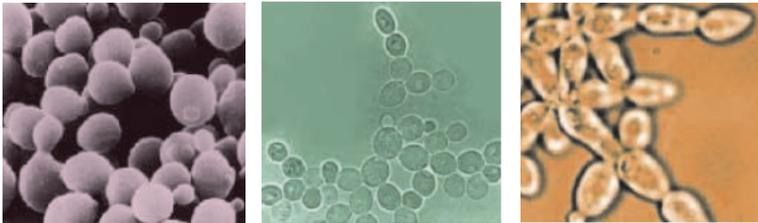


Fig. 19. Distintas imágenes de *Saccharomyces cerevisiae*
www.umanitoba.aca) (www.euronet.ul/users/warnar/biotechnologie2.htm)
(www.exploratorium.edu/cooking/bread)

Cuadro 3. Algunos ejemplos de enzimas obtenidas a partir de microorganismos y utilizadas en la industria alimentaria

Enzima	Fuente o tipo	Aplicaciones
α -amilasa	Bacterias (por ej. <i>Bacillus subtilis</i>) u hongos (por ej., <i>Aspergillus niger</i>)	Jarabes de almidón, piensos animales
β -amilasa	<i>Bacillus</i> sp	Jarabe de maltosa, cervecería
β -glucanasa	Exo y endo - β -1,4-glucanasa	Cervecería
Dextranasa	Varios microorganismos (ej., <i>Leuconostoc mesenteroides</i>)	Hidroliza polisacáridos
Glucoamilasa	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus</i> sp, <i>Endomyces</i> sp	Jarabes de dextrosa y fructosa
Hemicelulasa, pentosana, xylanasa	<i>Thermomyces lanuginosus</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i>	Panadería, zumos de frutas
Lactasa	<i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus</i>	Eliminación de lactosa en leche
Aminopeptidasa	<i>Lactococcus lactis</i>	Alimentos y piensos
Glutaminasa	<i>Bacillus</i> , <i>Aspergillus</i>	Glutamina \Rightarrow Glutamato
Catalasa y glucosa oxidasa	<i>Aspergillus niger</i>	Desazucarado de huevos (elimina trazas de glucosa por oxidación a ac. glucónico y peróxido de H ₂)
Quimosina	<i>Escherichia coli</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i>	Elaboración de queso

ANÁLISIS DEL RIESGO

(El riesgo en relación con los alimentos obtenidos a partir de organismos modificados genéticamente: su evaluación y su gestión)

Si bien es cierto que la atención que prestan las sociedades de los países de mayor desarrollo social a determinadas circunstancias que pueden comprometer su salud o su vida es sustancialmente mayor que la que prestan a otras (alimentación versus tráfico), lo cierto es que los riesgos para la salud asociados al consumo de productos alimenticios son objeto de atención prioritaria.

A tal fin, las sociedades no sólo demandan de los científicos un conocimiento completo de los riesgos (y de los factores que los condicionan), sino que exigen a sus gobernantes que les garanticen la situación ideal de "**riesgo cero**" en relación con los productos que consumen. Las respuestas de estos últimos son dobles:

- (i) ofrecer mensajes relativos a la consecución del exigido "riesgo cero", y
- (ii) poner en marcha sistemas de organización que permitan utilizar el mejor de los conocimientos y adoptar las medidas de gestión más eficaces que cada sociedad pueda permitirse.

Sin duda, una comunicación adecuada, tanto del conocimiento real que se tiene en relación con los riesgos (y las dudas o ausencia de conocimientos), como de las medidas de gestión que se ponen en marcha, son imprescindibles para que los individuos puedan conocer el nivel de riesgo asociado a sus actividades y participar activamente en su gestión.

El modelo anteriormente sugerido de actuación en relación con el riesgo (evaluación científica, gestión y comunicación), es el más aceptado internacionalmente y tiene su reflejo en la metodología que hoy se denomina "**análisis del riesgo**". Sirva como ejemplo del grado de aceptación, que este mode-

lo, en virtud del acuerdo constitutivo de la Organización Mundial del Comercio (refrendado por la mayor parte de los países), es de inexcusable utilización para la adopción de medidas sanitarias (por ejemplo las medidas de gestión en relación con los riesgos para la salud asociados al consumo de alimentos) por los gobiernos de todo el mundo.

Pero las sociedades más avanzadas no se preocupan únicamente de los riesgos inmediatos para su salud, sino que otro tipo de preocupaciones son objeto también de consideración: riesgos indirectos para la salud, riesgos para generaciones futuras, etc.

En relación con los OMG, los riesgos que son objeto de mayor atención son, principalmente, de dos tipos: (i) riesgos **para la salud** por el consumo de alimentos procedentes de OMG; (ii) riesgos **para el medio ambiente** derivados del cultivo o de la utilización de OMG. Por supuesto que, en la consideración de los riesgos asociados a un avance tecnológico (como el que representan las técnicas de Ingeniería Genética), se han de considerar también los correspondientes beneficios: la relación costo/beneficio es una etapa obligada del proceso que antes hemos denominado "gestión del riesgo".

¿Cómo se evalúan los riesgos en relación con los OMG?

El detalle de los procedimientos de evaluación de los riesgos, proceso de base científica no exento de limitaciones e incertidumbres (si bien las mismas han de explicitarse en el informe final resultante del proceso de evaluación), no puede abordarse en una obra como ésta. Sin embargo, es importante a sus fines, conocer el conjunto de aspectos que en el citado proceso de evaluación de riesgos se consideran. El lector interesado en un desarrollo mayor puede acudir a un reciente informe del Comité Científico Director de la Unión Europea sobre el particular⁴.

⁴ Scientific Steering Committee –SSC- (2003). Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. Prepared for the SSC by the Joint Working Group on Novel Foods and GMOs. 6-7 March 2003. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out327_en.pdf

Familiaridad y equivalencia sustancial

La primera estrategia a considerar en el proceso de evaluación del riesgo consiste en la comparación del OMG con otro organismo **No-Modificado**, de características genéticas básicas, con relación al cual se dispone de experiencia de muchos años en relación con su utilización sin peligro (se trataría, por ejemplo, de comparar una variedad de maíz transgénico con otra variedad de maíz convencional). A tal fin se emplean dos conceptos desarrollados ya hace unos años en el seno de la OCDE⁵ y del Comité Conjunto de la FAO⁶ y de la OMS⁷ de expertos en alimentos obtenidos por procedimientos biotecnológicos: el de **familiaridad** y el de **equivalencia sustancial**. El primero (familiaridad) se basa en el hecho de que la mayoría de los OMG se han obtenido a partir de organismos (por ej., plantas) cuya biología se conoce con gran detalle (y, en consecuencia, es posible predecir buena parte de su comportamiento ambiental). El segundo (equivalencia sustancial) conlleva el reconocimiento de un modelo (un organismo no modificado genéticamente) con un amplio historial de uso seguro en la elaboración de productos alimenticios, con relación al cual se comparará el OMG (o mejor los productos alimenticios obtenidos a partir de él), con el fin de establecer si las diferencias encontradas pueden constituir o no un peligro y, de ser consideradas peligro, para evaluar su importancia en términos sanitarios: gravedad y posible incidencia, es decir, para establecer el riesgo asociado a su consumo.

¿Qué aspectos se consideran en la evaluación del riesgo?

En el caso de las plantas modificadas genéticamente, para las que los protocolos de evaluación del riesgo están más desarrollados, se consideran:

1. Las **características** de los organismos de los que procede el gen y las de los organismos que reciben el gen.

⁵ OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

⁶ FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

⁷ OCDE: Organización Mundial de la Salud

2. Los **genes** que son insertados y se expresan.
3. Las **consecuencias potenciales** para la planta derivada de la modificación genética.
4. El **probable impacto ambiental** derivado de la liberación (intencionada) al medio ambiente: impacto en plantas silvestres, impacto en cultivos no modificados genéticamente, impacto en otros organismos y en los procesos ecológicos.
5. La posible **transferencia horizontal** entre plantas o componentes de las plantas y microorganismos en determinados ambientes.
6. La **toxicidad y alergenidad** potencial de los productos del gen y de sus metabolitos.
7. Las características de **composición, nutritivas, de inocuidad y agronómicas**.
8. La **influencia** de las operaciones del procesamiento del producto alimenticio **en las propiedades del alimento o del pienso**.
9. Los **cambios** potenciales en la **ingesta diaria**.
10. El posible **impacto nutritivo a largo plazo**.

¿Cómo se gestionan los riesgos?

Las normas que regulan la utilización de OMG y sus productos derivados son consideradas en otro apartado de esta obra. Sin embargo, conviene recordar aquí que: (1) la obtención en los laboratorios, el cultivo o explotación de los OMG, así como su importación, están sometidos a un proceso de autorización administrativa (concedida únicamente tras una adecuada evaluación de riesgos y la constatación, en su caso, de que éstos no son superiores a los derivados de la utilización de organismos equivalentes, no modificados genéticamente⁸) -en el cuadro 7 se

⁸ Para determinados aspectos, sin embargo, las exigencias en cuanto al nivel de inocuidad son superiores para los OMG que para los Organismos No-Modificados Genéticamente, equivalentes. Además, el controvertido "Principio de precaución" (que viene a suponer la no autorización de un OMG en caso de "dudas" acerca del resultado de la evaluación del riesgo) ha sido utilizado frecuentemente en relación con los OMG.

recoge la relación de OMG cuya comercialización ha sido autorizada en el seno de la UE⁹; (2) la utilización de OMG en la elaboración de productos alimenticios destinados al consumo humano o en la obtención de ingredientes empleados en la elaboración de productos alimenticios está, asimismo, sometida a autorización administrativa y, con mínimas excepciones, a la obligatoriedad de informar al consumidor del origen (“ingrediente o alimento procedente de OMG”) del producto o ingrediente (aquí no consideramos los procedimientos de gestión en relación con la seguridad laboral y con otros usos -medicamentos, industriales- de los OMG). En el cuadro 5 se recoge la relación de los 13 tipos de productos alimenticios procedentes de OMG cuya autorización ha sido concedida en el seno de la Unión Europea (UE). Hay que recordar que están asimismo autorizados (en la UE) todos los alimentos e ingredientes producidos total o parcialmente a partir de semillas de soja modificadas genéticamente para conferirles una mayor resistencia al herbicida glifosfato (Monsanto C/UK/94/M3/1; sexta autorización -03 Abril 1996-; coloquialmente conocida como “la soja de la Monsanto”, autorizada por UK, que no se cultiva en Europa, aunque sí se importa y se utiliza en la elaboración de productos para el consumo humano y animal), ó a partir de semillas de maíz modificadas genéticamente con una alteración de las propiedades insecticidas conferidas por el gen de la endotoxina Bt, combinada con una mayor resistencia al herbicida glufosinato de amonio -Bt 176- (Ciba-Geigy C/F/94/11-03; octava autorización -23 Enero 1997-: coloquialmente conocido como “el maíz de Ciba-Geigy -más tarde Novartis, hoy Syngenta-“ autorizado por Francia).

Hay que considerar, asimismo, que según el Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad (Naciones Unidas), el país

⁹ Si bien, determinados países de la UE mantienen restricciones a la comercialización de todos o algunos de ellos. En España, en el mes de marzo de 2003, se autorizó el Registro de cinco variedades de maíz Bt genéticamente modificado resistente a la plaga del taladro, proceden de los eventos Bt 176 y Mon 810, que fueron aprobados en la UE en 1997 y 1998, respectivamente. Se suman a otras dos variedades de maíz Bt que habían sido autorizadas para su comercialización en España en el año 1998.

exportador de un OMG debe advertir al país importador de la llegada del OMG destinado a liberarse en el medio ambiente, de manera que el Estado receptor pueda evaluar el riesgo, aceptar o no su entrada y establecer las condiciones.

Con todo, es necesario recordar que la autorización de nuevos OMG está paralizada en la UE desde el año 1998 y que hay más de dos decenas de OMG y una decena de productos alimenticios derivados de OMG “esperando” su autorización, incluso con una evaluación (científica) del riesgo favorable a su comercialización. Previsiblemente, la entrada en vigor de normativas aprobadas en el año 2001 (principalmente, la Directiva 2001/18/CE) y la previsible pronta aprobación de las nuevas disposiciones legislativas propuestas en la UE (cuadro 4) servirán para desbloquear la moratoria “*de facto*” antes citada.

Cuadro 4. Normativa en elaboración en el seno de la UE sobre OMG

1. Propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo sobre alimentos y piensos modificados genéticamente (COM 2001- 425 final, presentada por la Comisión el 25 de Julio de 2001) http://europa.eu.int/comm/food/fs/biotech/biotech08_en.pdf
En relación con la cual, y tras los dictámenes del Comité Económico y Social, del Comité de las Regiones y del Parlamento Europeo, se ha presentado por la Comisión, el 8 de octubre de 2002, una Propuesta modificada (COM 2002 –559 final). Publicada en DOCE C331E,31.12.02.
2. Propuesta de Reglamento sobre la trazabilidad y el etiquetado de organismos modificados genéticamente y productos procedentes de organismos modificados genéticamente (COM 2001 – 1821 final, presentada por la Comisión el 25 de Julio de 2001). http://europa.eu.int/comm/food/fs/biotech/biotech09_en.pdf
3. Propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente COM(2002) 85 final — 2002/0046(COD). (Presentada por la Comisión el 18 de febrero de 2002). Publicada en DOCE C151 E, 25.6.2002 p. 4

NORMATIVA REGULADORA

La Unión Europea (UE) dispone, actualmente, de una legislación específica en relación con los OMG, establecida para proteger tanto la salud de los consumidores como el medio ambiente. Hasta el pasado 17 de octubre de 2002, los OMG estaban básicamente regulados por la Directiva 90/220/CEE. A partir de esta fecha esta Directiva fue sustituida por la 2001/18/CE, actualmente vigente.

En ambas Directivas figura descrito de una manera pormenorizada todo el procedimiento que es necesario aplicar, en el curso del proceso de aprobación, para la valoración ó evaluación de los riesgos para la salud humana y el medio ambiente, antes de que cualquier OMG o producto que lo contenga sea liberado al medio ambiente o comercializado. El objetivo de la valoración del riesgo es la identificación y evaluación de los efectos adversos potenciales (directos o indirectos, inmediatos o retardados, acumulativos a largo plazo). La seguridad de los OMG depende de las características del material genético insertado, del tipo de organismo producido, del entorno receptor y de las interacciones con el medio ambiente.

Diversos productos derivados de los OMG, como pueden ser algunos obtenidos a partir del tomate transgénico, no están regulados por esta última Directiva, aunque sí por el Reglamento (CE) 258/97, de 27 de enero de 1997 sobre "Nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios".

El número de OMG autorizados en la UE desde octubre de 1991 es de 18 (cuadro 7), entre los que se incluyen diversos tipos de vacunas, colza, maíz, claveles, tabaco, achicoria, soja y un kit para la detección de antibióticos en leche. Desde octubre de 1998 no se ha producido ninguna autorización más.

Desde el año 1997 y en el comentado Reglamento sobre "Nuevos alimentos", se exige indicar la presencia de OMG en el etiquetado de los alimentos o ingredientes alimentarios que consistan o contengan un OMG. Además, en otras Directivas o

Cuadro 5. Alimentos e ingredientes alimentarios procedentes ya existentes y han sido autorizados en Europa

Nº ¹	Descripción del alimento o ingrediente alimentario
1	Aceite elaborado a partir de semillas de colza modificadas genéticamente, transformación TOPAS 19/2 y todos los cruzamientos convencionales
2	Aceite elaborado a partir de semillas de colza oleaginosa modificadas genéticamente derivadas de: (i) una línea de colza oleaginosa masculina MS1Bn (B01-4) y todos los cruzamientos convencionales; (ii) una línea de colza oleaginosa restauradora de la fertilidad RF1Bn (B93-100) y todos los cruces convencionales, y (iii) una combinación híbrida MS1XRF1
3	Aceite elaborado a partir de la línea GT 73 de semillas de colza oleaginosa resistentes al glifosfato
4	Alimentos e ingredientes alimentarios elaborados a partir de harina de maíz, gluten de maíz, sémola de maíz, almidón de maíz, glucosa de maíz y aceite de maíz derivado de la progenie de la línea de maíz MON 810
5	(1) Almidón y todos sus derivados; (2) Aceite virgen y refinado; y (3) Todos los productos transformados a base de calor o fermentación obtenidos a partir de sémola, gránulos o harina de maíz (fragmentos molidos en seco) a partir de maíz modificado genéticamente resistente al glufosinato amónico, transformación T25 y todas las variedades del mismo
6	Alimentos e ingredientes alimentarios derivados del transformante original Bt 11 cruzado con la línea pura nº 2044 (maíz) desarrollada por Northrup King, así como de las líneas puras e híbridas derivadas del mismo y que contienen los genes introducidos
7	Nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios producidos a partir de la línea MON 809 de maíz modificado genéticamente
8	Aceite elaborado a partir de semillas de colza modificadas genéticamente derivadas de Falcon GS 40/90
9	Aceite elaborado a partir de semillas de colza modificadas genéticamente derivadas de Liberator L 62
10	Aceite elaborado a partir de semillas de colza modificadas genéticamente derivadas de: la línea de colza oleaginosa macho estéril MS8 (DBN 230-0028) y todos los cruzamientos convencionales; la línea de colza oleaginosa restauradora de la fertilidad RF (DBN 212-0005) y todos los cruzamientos convencionales; la combinación híbrida MS8 + RF3
11	Riboflavina de <i>Bacillus subtilis</i> como nutriente
12	Aceite elaborado a partir de la línea 1445 (resistente a herbicida) de semillas de algodón
13	Aceite elaborado a partir de la línea 531 (resistente a insecto) de semillas de algodón

¹ Año de solicitud de autorización: 1-4 (1997), 5-7 (1998), 8-10 (1999), 11 (2000); 12-13 (2002)

² ACNFP: Advisory Committee on Novel Foods and Process (Comité consultivo sobre procedimientos de elaboración y alimentos nuevos del Reino Unido) (Reino Unido). BGVV Bundesamt für gesundheitlichen

de OMG que han sido considerados equivalentes a otros al amparo del Reglamento (CE) 258/1997.

Solicitante	Pruebas científicas presentadas²
AgrEvo UK Limited	Informe sobre el aceite de colza oleaginosa elaborado a partir de semillas modificadas genéticamente resistentes al glufosinato amónico (ACNFP)
Plant Genetic Systems NV, Gent	Informe sobre el aceite procedente de una línea restaradora de la fertididad usada en un programa de reproducción de híbridos de colza oleaginosa modificada genéticamente (ACNFP)
Monsanto Serv. Inter.S.A.,	Informe sobre el aceite de colza oleaginosa modificada genéticamente resistente al glifosato (ACNFP)
Monsanto Serv. Inter.S.A., Bruxelles	Informe sobre productos elaborados a partir de maíz modificado genéticamente para protegerlo de los insectos (ACNFP)
Agr Evo France SA	Informe sobre productos elaborados a partir de maíz modificado genéticamente resistente al glufosinato amónico (ACNFP)
Novartis Seeds AG Basilea	Informe del ACNFP sobre semillas de maíz modificado genéticamente para protegerlo de los insectos
Pioneer Overseas Corporation. Bruxelles	Informe del ACNFP sobre la línea MON 809 de maíz modificado genéticamente resistente a los insectos desarrollada por Pioneer Hi-bred International
Hoechst Schering AgrEvo GmbH. Frankfurt	Informe del BGVV sobre la equivalencia fundamental del aceite refinado comestible extraído de semillas transgénicas resistentes al glufosinato de la variedad Falcon GS/40/90
Hoechst Schering AgrEvo GmbH. Frankfurt	Informe del BGVV sobre la equivalencia fundamental del aceite refinado comestible extraído de semillas transgénicas resistentes al glufosinato de la variedad Liberator pHoe6/AC.
Plant Genetic Systems NV Gent	Informe del BGVV sobre la equivalencia fundamental del aceite refinado comestible extraído de semillas transgénicas resistentes al glufosinato de la variedad MS8/RF3
F. Hoffman-La Roche Ltd., Basilea	Informe del ACNFP sobre la riboflavina obtenida mediante fermentación utilizando <i>Bacillus subtilis</i> modificado genéticamente.
Monsanto Services International Brussels	Informe sobre la equivalencia sustancial entre el aceite de semillas de algodón y los ingredientes alimenticios derivados del algodón Roundup [®] Ready. (ACNFP)
Idem anterior	Informe sobre la equivalencia sustancial entre el aceite de semillas de algodón y los ingredientes alimenticios derivados de semillas de algodón resistentes a insecto. (ACNFP)

Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (D) (Instituto federal para la protección de la salud de los consumidores y la medicina veterinaria). AFSSA: Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Agencia francesa de seguridad de los alimentos).

Reglamentos, se exige similar información en el etiquetado de aditivos y aromatizantes si contienen ADN o proteínas de origen transgénico y en el de las variedades de semillas genéticamente modificadas; sin embargo, no existe legislación específica en este sentido en relación con los piensos para animales producidos a partir de OMG. El Reglamento (CE) 49/2000 exige de la correspondiente información en el etiquetado de aquellos alimentos convencionales elaborados a partir de soja o maíz que contengan niveles inferiores al 1% de ADN o proteínas resultantes de una modificación genética (procedentes de “la soja de la Monsanto” o del “maíz de Ciba-Geigy”; además el operador ha de demostrar a las autoridades competentes que ha tomado todas las medidas oportunas para evitar la utilización de OMG; este 1% se considera que puede ser el resultado de una “contaminación accidental”).

La Comisión Europea aprobó el 25 de julio de 2001 dos propuestas de Reglamento sobre los OMG (cuadro 4), que tienen como finalidad establecer un marco regulador más riguroso y eliminar los vacíos legales existentes. La trazabilidad, la regulación del empleo de OMG en los piensos, la mejora en las normas reguladoras existentes sobre el etiquetado y la dinamización del proceso de autorización para el uso, son aspectos básicos recogidos en los citados proyectos y que, de alguna manera, completarán la normativa reguladora sobre los OMG en Europa.

En España y por la reciente Ley 9/2003, de 25 de abril (BOE de 26 de abril de 2003) se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente. Esta Ley (que incorpora las normas sustantivas de las Directivas europeas vigentes) tiene por finalidad “adecuar el ordenamiento jurídico español a la nueva normativa comunitaria e incorporar, asimismo, determinados preceptos para afrontar las nuevas demandas en relación con la gestión y el control de las actividades de utilización confinada y liberación voluntaria, incluida la comercialización, de organismos modificados genéticamente”

Cuadro 6. Tipos de alimentos transgénicos en el mercado internacional

Tipo de alimento	Propiedad (característica)	Aprobado en
Maíz	Resistente a insectos	Argentina, Canadá, Sudáfrica, USA, UE
	Tolerante a herbicidas	Argentina, Canadá, USA, UE
Soja	Tolerante a herbicidas	Argentina, Canadá, Sudáfrica, USA, UE (solo para procesamiento)
Colza	Tolerante a herbicidas	Canadá, USA
Achicoria	Tolerante a herbicidas	UE (solo para reproducción)
Calabazas	Resistente a virus	Canadá, USA
Papaya	Resistente a insectos	Canadá, USA
	Tolerante a herbicidas	Canadá, USA

**Cuadro 7. Productos OMG aprobados en la Unión Europea
(Directiva 90/220/EEC)**

Producto	Empresa que lo registró	Fecha de aprobación por la Comisión o de autorización por el Estado miembro	Utilización
Vacuna frente a la enfermedad de Aujeszky	Vermie Veterinär Chemie GmbH	18.12.92	Intramuscular
Vacuna frente a la rabia	Rhône-Merieux	19.10.93	
Tabaco tolerante al bromoxynil	SEITA	08.06.94	
Vacuna frente a la enfermedad de Aujeszky (otras aplicaciones)	Vermie Veterinär Chemie GmbH	18.7.94	Intramuscular e Intradérmica
Colza masculina estéril, resistente al glufosinato amónico	Plant Genetic System	06.02.96	Cultivo
Soja tolerante al glifosato	Monsanto	03.04.96	Importación y transformación en productos no viables
Achicoria masculino estéril, tolerante a glufosinato amónico	Bejo-Zaden BV	20.05.96	Cultivo
Maíz Bt tolerante al glufosinato amónico (Bt-176)	Ciba-Geigy	23.01.97	
Colza masculina estéril tolerante al glufosinato amónico	Plant Genetic System (C/F/95/05/01/A)	06.06.97	Importación y transformación en productos no viables
Colza masculina estéril tolerante al glufosinato amónico	Plant Genetic System (C/F/95/05/01/B)	06.06.97	
Kit de diagnóstico para detectar residuos de antibióticos en leche	Valio Oy	14.07.97	
Claveles con colores modificados	Florigene	01.12.97	
Colza tolerante al glufosinato amónico	AgrEvo	22.04.98	Importación y transformación en productos no viables
Maíz tolerante al glufosinato amónico (T25)	AgrEvo	22.04.98	
Maíz que expresa el gen Bt cryIA(b)(MON 810)	Monsanto	22.04.98	
Maíz tolerante al glufosinato amónico y que expresa el gen Bt cryIA (b) (Bt-11)	Novartis (antes Northrup King)	22.04.98	
Claveles con base mejorada	Florigene	20.10.98	
Claveles con color modificado	Florigene	20.10.98	

INDICE

Los antecedentes	4
ALIMENTOS TRANSGÉNICOS.	10
TIPOS DE ORGANISMOS TRANSGÉNICOS (OMG)	12
PRODUCCIÓN DE PLANTAS TRANSGÉNICAS (alimentos transgénicos de origen vegetal)	15
Producción de plantas transgénicas mediante el uso de vectores	18
Producción de plantas transgénicas mediante transferencia directa del ADN	18
Cañón de genes (biolística o biobalística)	18
Transgénesis mediante electroporación	20
Transgénesis mediante microinyección	21
Caracteres buscados en la transgénesis de plantas	21
I. Plantas resistentes	21
I.1. Plantas resistentes a microorganismos patógenos ..	21
Plantas resistentes a virus	21
Plantas resistentes a bacterias	22
Plantas resistentes a hongos	22
I.2. Plantas resistentes a insectos	22
I.3. Plantas resistentes a herbicidas	25
II. Maduración controlada de frutos por transgénesis.	27
III. Plantas de origen transgénico con valor añadido	28
III.1. Vacunas comestibles	28
III.2. Alimentos con vitaminas y alimentos hipoalérgicos ..	31
III.3. Modificación de la calidad de alimentos mediante la aplicación de técnicas de transgénesis	32
III.3.1. Modificación de la calidad nutritiva	32
III.3.2. Modificación de la calidad, que afecta a situaciones clínicas en el consumidor	34
EL PRO Y EL CONTRA DE LOS ALIMENTOS TRANSGÉNICOS. CONSIDERACIONES	35
MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ALIMENTOS TRANSGÉNICOS	37
1. Métodos que detectan las proteínas nuevas	37
2. Métodos que detectan el/los transgenes	40
SITUACIÓN ACTUAL DEL CULTIVO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS	42
TRANSGÉNESIS EN ANIMALES (animales transgénicos) ...	44
MICROORGANISMOS TRANSGÉNICOS	51
ANÁLISIS DEL RIESGO.	55
¿Cómo se evalúan los riesgos en relación con los OMG?. .	56
Familiaridad y equivalencia sustancia	57
¿Qué aspectos se consideran en la evaluación del riesgo? .	57
¿Cómo se gestionan los riesgos?	58
NORMATIVA REGULADORA	61

CARTILLAS DIVULGATIVAS OTROS TÍTULOS PUBLICADOS

LO QUE USTED DEBE SABER DEL QUISTE HIDATÍDICO

Miguel CORDERO DEL CAMPILLO

LO QUE USTED DEBE SABER DE LA FASCIOSIS 'PAPO'

M^a Yolanda MANGA GONZÁLEZ, M^a Camino GONZÁLEZ LANZA

LO QUE USTED DEBE SABER DE LAS ENFERMEDADES ALÉRGICAS DE LA PIEL EN ANIMALES DE COMPAÑÍA

Juan REJAS LÓPEZ. Inmaculada DÍEZ PRIETO

LO QUE USTED DEBE SABER DE LOS TUMORES EN LOS ANIMALES DE COMPAÑÍA

José Manuel MARTÍNEZ RODRÍGUEZ, Alfredo ESCUDERO DÍEZ

LO QUE USTED DEBE SABER DE LA TULAREMIA.

LA ENFERMEDAD DE LAS LIEBRES

Elías F. RODRÍGUEZ FERRI, César B. GUTIÉRREZ MARTÍN, Víctor A. DE LA PUENTE

LO QUE USTED DEBE SABER DE LAS SALMONELAS Y SALMONELOSIS

Elías F. RODRÍGUEZ FERRI, César B. GUTIÉRREZ MARTÍN, Víctor A. DE LA PUENTE

LO QUE USTED DEBE SABER DE LOS PECES EN CASTILLA Y LEÓN

Gustavo GONZÁLEZ FERNÁNDEZ

LO QUE USTED DEBE SABER DE LAS SETAS VENENOSAS

Antonio RUBIO LÓPEZ

LO QUE USTED DEBE SABER DE LOS PRIONES Y EL MAL DE LAS VACAS LOCAS (EEB)

Elías F. RODRÍGUEZ FERRI, Benito MORENO GARCÍA, Marcelino ÁLVAREZ MARTÍNEZ
Juan Francisco GARCÍA MARÍN

LO QUE USTED DEBE SABER DE LAS SETAS COMESTIBLES

Sociedad Micológica Leonesa "SAN JORGE".

LO QUE USTED DEBE SABER DE LAS SETAS CULTIVADAS

Sociedad Micológica Leonesa "SAN JORGE".

LO QUE USTED DEBE SABER SOBRE PLANTAS ÚTILES

Félix Llamas, Carmen Acedo

LO QUE USTED DEBE SABER SOBRE HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y COLESTEROL

Olegario Ortiz Manchado

