

Arroz *Bt* genéticamente modificado – preocupación sobre su seguridad como alimento y para el medio ambiente

Introducción

El arroz BT genéticamente modificado (GM) resistente a los insectos no ha sido aprobado para su cultivo en ningún lugar del mundo. No hay evaluación del ambiente ni evaluación de la seguridad de los alimentos para el consumo del hombre disponibles para ningún arroz *Bt* transgénico. Sin embargo, estudios sobre otros cultivos *Bt* como el maíz y el algodón dan fuertes indicaciones de que el arroz *Bt* podría tener serias consecuencias ambientales y existe una gran preocupación sobre la seguridad de estos alimentos para el hombre.

Los motivos de preocupación sobre la seguridad de los alimentos hechos con arroz *Bt* GM incluyen:

- El arroz es el alimento más importante para la mayoría de las personas.
- No hay evaluación sobre la seguridad de los alimentos.
- Cry1Ac es un alérgeno potencial.

El arroz *Bt* GM resistente a los insectos puede provocar efectos secundarios en el ambiente...

- si son dañadas especies no blanco.
- si se fomenta el crecimiento de mala hierba problemática.
- si la resistencia contra los insectos que se pondrá en la toxina evolucionaria y requiere de un control químico más intensivo.
- si se contaminan los recursos genéticos.

¿Qué es el arroz *Bt* GM resistente a los insectos?

Las variedades de arroz *Bt* GM resistente a los insectos son desarrolladas para ser resistentes a ciertas plagas tales como la polilla *Marasmia patnalis* y el taladro amarillo del tallo de arroz¹. Los campos *Bt* se crean al insertar una versión sintética de un gen de la bacteria de la tierra, *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) en el ADN de la planta, para que así la planta cree su propia toxina para acabar con las plagas.

Se sabe que hay varios experimentos de diferentes tipos de arroz *Bt* GM, ya sea en el laboratorio o en pruebas en los campos. Estos producen toxinas *Bt* un poco diferentes e incluyen: Cry1Ab; CryAc y aquellos que contienen ambas toxinas fusionadas, Cry1Ab/Cry1Ac. Estos tipos de

toxinas *Bt* tienen propiedades un poco diferentes. La mayoría de los estudios ambientales han sido realizados con la toxina Cry1Ab que es la más usada en el maíz *Bt*. Hay preocupación sobre lo seguro que son los alimentos para el hombre relacionados con el Cry1Ac. Sin embargo, hay muy poca o ninguna información disponible en lo que respecta a lo seguro de los alimentos o el riesgo al ambiente por las toxinas fusionadas, Cry1Ab/Cry1Ac ya que no ha sido usado en campos de alimentos GM comerciales en ninguna parte del mundo y no existe una comparación natural. El algodón Bollgard GM de Monsanto contiene un gen donde se encuentra el Cry1Ab/Cry1Ac², pero no se sabe si es la misma proteína *Bt* producida en el arroz GM y el del algodón no es un campo donde se produzca alimento.

Arroz *Bt* GM y seguridad de alimentos

En promedio, el arroz conforma el 30% del consumo calórico y el 19% del consumo proteínico en China³. El arroz también es una parte importante de la dieta a todas las edades, incluyendo a los bebés, donde la harina de arroz y atole son parte de los alimentos que se dan después de la lactancia⁴. El maíz y la soya GM son usados para alimentar animales y las experiencias con estos campos no pueden usarse para asumir lo seguro del arroz GM.

Preguntas clave sobre la seguridad de los alimentos son:

- 1) si la modificación genética ha tenido como resultado cambios dañinos potenciales no intencionales y las implicaciones de éstos, si ocurren.
- 2) cualquier efecto alérgico o tóxico de los productos genéticos introducidos a través de la ingeniería genética.

No se ha hecho ninguna evaluación sobre la seguridad del arroz *Bt*. Hay información limitada sobre el arroz GM Cry1Ab⁵. Pero no hay información disponible sobre la toxina Cry1Ab/Cry1Ac, no se sabe por completo sobre lo seguro de este alimento.

Hay gran preocupación sobre la alergenicidad potencial del Cry1Ac. Investigaciones relacionadas con la inmunogenicidad de la toxina Cry1Ac⁶ indica que:

- La protoxina Cry1Ax es un inmunógeno potente.

- La protoxina es inmunógena tanto por la ruta intraperitoneal (inyectada) y la intragástrica (ingerida).
- La respuesta inmune a la protoxina es tanto sistémica como mucosal.
- La protoxina Cry1Ac se une a proteínas de superficie en el intestino delgado del ratón.

Estos informes de investigación sugieren que se requiere de una precaución extrema para el uso del arroz Cry1Ac GM.

Aunque es probable que las toxinas *Bt* sean degradadas parcialmente durante la cocción del arroz antes de su consumo, limitando el posible potencial alergénico o tóxico, no hay datos sobre esto. Este potencial para la alergenicidad requiere de atención y precauciones, especialmente ya que el arroz es un alimento de primera necesidad. La preocupación que hay de la alergia relacionada con el Cry1Ac o la proteína fusionada en el arroz *Bt* GM podría tener consecuencias reguladoras. Por ejemplo, no se permitió que el maíz *Bt* StarLink se usara en alimentos para el hombre en América del Norte debido al riesgo de provocar alergias.

El Codex Alimentarius de la FAO/OMG que desarrollan estándares internacionales para las pruebas de seguridad de alimentos GM han adoptado un enfoque de "árbol de decisiones". Esto significa que, si se encuentra alguna prueba de la posible alergia (como en el caso del Cry1Ac, necesitaría realizarse una evaluación muy detallada sobre los riesgos alergénicos que tendrían que llevarse a cabo, según las directrices de la FAO/OMG. Por esto, debe examinarse el Cry1Ac como un alérgeno potencial. Esto aún no se ha realizado.

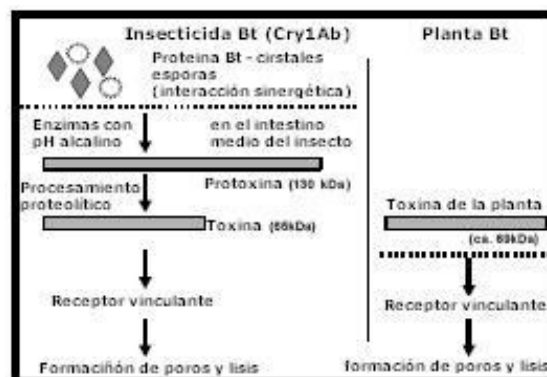
Se desconoce lo seguro que es el arroz Bt GM. Se requiere hacer una investigación minuciosa.

Impactos del arroz *Bt* GM en organismos no blanco

En su forma natural, el *Bt* ha sido usado por los granjeros que practican métodos orgánicos y otros de crecimiento sustentable desde la década de 1950 como un spray para matar plagas sin dañar insectos que no eran blanco u otro tipo de fauna y flora. Sin embargo, las toxinas *Bt* producidas por el arroz resistente a los insectos son diferentes de manera considerable y son potencialmente dañinos a los insectos depredadores benignos.

Los sprays naturales *Bt* tienen un efecto mínimo en los organismos que no son blanco porque la protoxina bacteriana está en un estado inactivo y sólo se vuelve tóxica si se procesa en el intestino de ciertas especies (blanco) de larvas de insectos. En contraste, muchas plantas resistentes a los insectos contienen un gen *Bt* truncado y artificial y se requiere de menor procesamiento para generar la toxina. Por esto es menos selectiva y puede dañar a insectos que no son blanco que no tienen las

enzimas para procesar la protoxina, al igual que las plagas a las que se pretende atacar (Fig. 1)⁸.



Las proteínas *Bt* de los sprays *Bt* se degradan relativamente rápido en el campo, como resultado de la luz ultravioleta y pierden la mayoría de las actividades tóxicas por varios días hasta dos semanas después de la aplicación⁹. Sin embargo, en las cosechas *Bt*, la toxina *Bt* es producida en toda la vida de las plantas.

Efectos directos:

El arroz *Bt* GM, así como otras cosechas *Bt*, podría ser dañina a otros organismos no blanco si consumen la toxina directamente del polen o de los desechos de las plantas, o indirectamente alimentándose de las plagas que ingirieron la toxina. Esto podría dañar a los ecosistemas, reduciendo un gran número de especies importantes o reducir un gran número de organismos benignos que ayudarían naturalmente a controlar las especies de plagas.

Las toxinas *Bt* en el arroz GM son específicamente tóxicas para los lepidópteros (mariposas y polillas), pero no todos éstos son plagas. El potencial de las cosechas *Bt* GM de ser directamente tóxicas para especies no blanco ha sido destacado por la investigación en los EE.UU. cuando se demostró que el polen de un tipo de maíz *Bt* GM (Bt176) era tóxico para la tan querida mariposa Monarca¹⁰. Recientemente, se ha mostrado que la exposición a ese largo plazo, incluso a niveles relativamente bajos de *Bt* en el polen del maíz provoca efectos secundarios en las larvas de la mariposa Monarca¹¹. En gran medida, no se identificaron estos peligros a las especies no blanco hasta después de la comercialización del maíz *Bt*, y se necesitaron varios años de investigación para darse cuenta de ello.

En Asia, el gusano de la seda, *Bombyx mori*, es sensible a la toxina *Bt* Cry1Aa, aunque mucho menos al Cry1Ab y Cry1Ac^{12,13}. Una investigación mostró que el polen se puede hallar en las plantas de mora usadas por los gusanos de la seda en niveles que serían tóxicos si contuviera la toxina *Bt* Cry1Aa¹⁴. En áreas donde la producción de seda se lleva a cabo al usar cosechas mezcladas de arroz y moras, si se introducen Cry1Aa que producen variedades de arroz GM y la toxina se traslada

en forma de polen, se podrían dar impactos serios en el gusano de la seda. Además, la exposición a largo plazo a otras toxinas *Bt*, tales como la Cry1Ab y Cry1Ac posiblemente podría provocar efectos dañinos similares en los gusanos de seda a aquellos observados a bajo nivel de exposición de *Bt* en las larvas de la mariposa Monarca. Sin embargo, tales estudios a largo plazo aún no se han llevado a cabo.

El arroz Bt GM podría tener efectos secundarios en la flora y fauna, sobre todo en las mariposas y polillas.

Efectos indirectos:

Datos del maíz *Bt* indican que ha aumentado el índice de mortalidad de los insectos benignos, crisopas, cuando se alimentan de las larvas de las plagas del maíz, el piral del maíz, que se han alimentado de *Bt*¹⁵. Se encontró que pocas catarinas benignas se encuentran en menor cantidad en los campos de maíz *Bt* que en los campos de maíz que no son *Bt*. Las catarinas se alimentan de muchos recursos, incluyendo áfidos, polen, huevecillos de piral del maíz europeo y huevecillos de otras plagas¹⁶, así que tienen muchas rutas de exposición a la toxina *Bt*. Especies benignas y que no son blanco que puedan alimentarse de plagas de arroz, podrían ser afectadas de manera similar.

Se han documentados cambios poblacionales tanto de las plagas como de enemigos naturales en el algodón *Bt*. Datos desde China muestran que el uso de cosechas *Bt* pueden exacerbar poblaciones de otras plagas secundarias, incluyendo áfidos, chinches opacas (*Iygu*), moscas blancas, arañas rojas o piojos de plantas¹⁷. Los estudios han mostrado reducciones importantes en poblaciones de los parásitos benignos *Microplitis* sp. (reducción del 88.9%) y *Campoletis chloridae* (reducción del 79.2%) en los campos de algodón¹⁸.

Las toxinas Bt del arroz GM podrían pasar a niveles más altos de la cadena alimentaria, afectando a otros organismos. El arroz Bt GM también podría afectar a insectos benignos.

Impacto del arroz *Bt* GM en la salud del suelo

Una investigación reciente también ha mostrado que la toxina *Bt* es liberada por las raíces del arroz *Bt*, conteniendo Cry1Ab y que la toxina persiste como resultado de unir las partículas del suelo^{19,20}. No está claro si la liberación de estas toxinas ayudará al control de las especies de plagas o dañará a especies que no son blanco en el suelo.

Estudios recientes de laboratorio en China han identificado cambios en algunas actividades enzimáticas del suelo y las comunidades microbiales cuando las pajas del arroz *Bt* se incorporaron en suelos irrigados con agua^{21,22}. Se consideraba que había sido responsable algún cambio en la composición del arroz GM como

resultado de la introducción del gen *Bt*, aunque no se han probado las consecuencias de los descubrimientos sobre la fertilidad del suelo. También se encontró que la producción de lignina en el maíz *Bt* ha aumentado de manera inesperada, lo que arrojó preguntas sobre el impacto de degradación en el suelo²³.

Los organismos que habitan en el suelo juegan un papel importante para la salud del suelo y, por tanto, en la agricultura. Una cantidad desconocida de especies compone la red de comida del suelo y puede ser afectada por las pruebas de *Bt* que van a hacerse en algunos tipos de suelo y ecosistemas.

El arroz Bt GM puede ser un problema a largo plazo para la salud del suelo, ya que traslada proteínas que se sabe son tóxicas para ciertos insectos.

Efectos en la agricultura sustentable

Un peligro adicional al ambiente de las cosechas resistentes a los insectos es que las plagas blanco podrían desarrollar una resistencia a los efectos del *Bt*. Esto es debido a que la constante exposición a la toxina *Bt* producida por las plantas promueve que sobrevivan las plagas que tienen inmunidad genética al *Bt*. Con el tiempo, esto podría llevar a la proliferación de individuos resistentes hasta el punto que el *Bt* ya no sería efectivo en contra de la mayoría de la población de la plaga blanco²⁴.

Si se extendiera la resistencia, las propiedades resistentes a los insectos de los campos GM ya no serían efectivas. La aplicación de pesticidas químicos tóxicos nuevos sería, por tanto, casi inevitable.

Una resistencia mayor sería una seria amenaza para el uso de sprays *Bt*, que son una herramienta útil para los métodos de agricultura sustentable.

Potencial de contaminación

Arroz silvestre:

Asia es el centro donde se origina el arroz y, por tanto, se distribuyen las especies silvestres con las que puede cruzarse (por polinización) el arroz cultivado (*Oryza sativa*). En ocasiones estas especies silvestres son mala hierba. Aunque el grado de cruza es bajo comparado con otras cosechas, aún se considera un número importante²⁵. La producción de cruza entre arroz cultivado GE y el silvestre es considerada inevitable con el tiempo, donde los dos coinciden en terrenos aledaños. La resistencia a los insectos en los campos GM (por ejemplo, cosechas *Bt*) es considerado por los científicos como un gen que eleva el buen estado físico, y por esto es probable que incremente la frecuencia y se extienda en las poblaciones locales²⁶. La introducción del rasgo *Bt*, que podría mejorar la competitividad de las variedades de arroz silvestre podría llevar a su aparición como mala hierba más problemática. Tal arroz silvestre *Bt* también podría

sobrepasar a las variedades silvestres naturales y tal vez llevarlas a su extinción.

Aunque el *O. rufipon* no está presente en China central, y no es una mala hierba problemática en los campos de arroz, si aparece en las provincias del sur, Guangdong, Guangxi, Hainan y Yuunnan y se considera que está en peligro²⁷. Por esto, el arroz GM podría ocasionar impactos negativos en las especies y añadir una preocupación más a la necesidad establecida de proteger a estas poblaciones del flujo del gen del arroz cultivado^{28,29}.

La pérdida de especies silvestres de arroz a través de la contaminación genética es una amenaza considerable para los esfuerzos de conservar la biodiversidad natural y representa una seria pérdida de recursos genéticos y puede peligrar la seguridad de la cría y de los alimentos en el futuro ya que los esfuerzos de crianza dependen de los recursos genéticos diversos.

Arroz rojo (*weedy rice*) :

Donde el arroz rojo es un problema, el flujo del gen es inevitable con el tiempo, a pesar de las frecuencias bajas de cruce^{30,31}. La transferencia de genes que da resistencia a los ataques y enfermedades provocados por insectos puede incrementar en el futuro la ventaja competitiva del arroz rojo.

Arroz no GM:

Aunque el arroz se poliniza a sí mismo en gran medida, se ha detectado el movimiento del polen hasta 100 metros y está fuertemente influenciado por la velocidad y la dirección del viento³². Por tanto, cierto grado de polinización cruzada del arroz GM hacia arroz no GM es casi inevitable.

Conclusiones

1. No se sabe qué tan seguro es el arroz *Bt* GM. Se requiere de una investigación exhaustiva sobre su alergenicidad.
2. El arroz *Bt* GM puede provocar efectos secundarios en la flora y fauna, sobre todo en mariposas y polillas.
3. Las toxinas *Bt* del arroz GM puede pasar a un nivel más alto de la cadena alimentaria y afectar a otros organismos. El arroz *Bt* GM también puede afectar insectos benignos.
4. El arroz *Bt* GM puede ser problemático para la salud del suelo a largo plazo, ya que traslada proteínas que se sabe son tóxicas para ciertos insectos.
5. El aumento de la resistencia puede volverse una amenaza seria para el uso de sprays *Bt*, que son una herramienta útil para los métodos de agricultura sustentable.
6. La pérdida de especies silvestres de arroz a causa de la contaminación genética es una amenaza considerable para los esfuerzos de conservación de la biodiversidad natural y representa una seria pérdida de recursos genéticos.

REFERENCIAS

- 1 Tu, J., Zhang, G., Datta, K., Xu, C., He, Y. Zhang, O., Khush, G. and Datta, S.K. 2000. Field performance of transgenic elite commercial hybrid rice expressing *Bacillus thuringiensis* K-endotoxin. *Nature Biotechnology* 18: 1101-1104.
- 2 <http://www.agbios.com/dbase.php?action=ShowProd&data=MON531%2F757%2F1076&format=LONG>
- 3 Rice Today, September 2002. Rice Facts. Essential food for the poor. <http://www.irri.org/publications/today/pdfs/1-2/facts1-2.pdf> <28th October 2004>
- 4 Ministry of Health and Welfare, Japan (1999) Guideline for weaning (revised edition) *Pediatrics International* 41 (1): 115 - doi: 10.1046/j.1442-200x.1999.01037.x
- 5 Wang, Z.H., Wang, Y., Cui, H.R., Xia, Y.W., Altosaar, I. & Shu, Q.Y. 2002. Toxicological evaluation of transgenic rice flour with a synthetic cry1Ab gene from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 738-744.
- 6 Moreno-Fierros, L. García, N. Gutiérrez, R. López-Revilla, R. Vázquez-Padrón, R.I. (2000). Intranasal, rectal and intraperitoneal immunization with protoxin Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* induces compartmentalized serum, intestinal, vaginal and pulmonary immune responses in Balb/c mice. *Microbes Infect* 2(8): 885-90; Vázquez-Padrón, R.I, Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán, L, de la Riva, G.A & López-Revilla, R. (1999). *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol* 49: 578-584; Vázquez-Padrón, R.I Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán, L, de la Riva, G.A & López-Revilla, R. (1999). Intra-gastric and intraperitoneal administration of Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* induces systemic and mucosal antibody responses in mice. *Life Sciences* 64(21): 1897-1912; Vázquez-Padrón, R. I., Moreno-Fierros, L. Neri-Bazán, L. Martínez-Gil, A.F., de la Riva, G.A. & López-Revilla, R.. (2000). Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res* 33: 147-155; Vázquez-Padrón, R. I., Gonzáles-Cabrera, J., García-Tovar, C. Neri-Bazán, L., López-Revilla, R., Hernández, M., Moreno-Fierros, L. & de la Riva, G.A. (2000). Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Comms* 271: 54-58.
- 7 FAO-WHO 2001. Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods. Report of the joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from Biotechnology, 22-25 January 2001, pp1-26.
- 8 Hillbeck, A. 2001. Transgenic host plant resistance and non-target effects. In: *Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects*. Letourneau, D.K. and B.E. Burrows [eds.] Boca Raton, FL: CRC Press. Hillbeck, A., M.S. Meier and A. Raps. 2000. Review on non-target organisms and *Bt* plants. Report prepared for Greenpeace International, Amsterdam, EcoStrat GmbH, Ecological Technology Assessment & Environmental Consulting, Zurich, Switzerland
- 9 Hillbeck, A. 2001. Transgenic host plant resistance and non-target effects. In: *Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects*. Letourneau, D.K. and B.E. Burrows [eds.] Boca Raton, FL: CRC Press.
- 10 Losey J. E., Raynor, L. & Cater, M.E. (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- 11 Dively, G.P., R. Rose, M.K. Sears, R.L. Hellmich, D.E. Stanley-Horn, D.D. Calvin, J.M. Russo and P.L. Anderson. 2004. Effects on monarch butterfly larvae (Lepidoptera: Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab expressing corn during anthesis. *Environmental Entomology* 33: 1116-1125.
- 12 Jenkins J.L & Dean .D.H. (2001) Binding specificity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa for purified, native *Bombyx mori* aminopeptidase N and cadherin-like receptors *BMC Biochemistry* 2001, 2:12. <http://www.biomedcentral.com/1471-2091/2/12> <29th October 2004>.
- 13 Wang Z-H Shu Q-Y, Cui H-R, Xu M-K, Xie X-B, Xia Y-W, (2002) The effect of *Bt* transgenic rice flour on the development of silkworm larvae and the sub-micro-structure of its midgut. *Scientia Agricultura Sinica* 35: 714-718.
- 14 Fan, L.-J., Wu, Y.-Y., Pang, H.-Q., Wu, J.-G., Shu, Q.-J., Xu, M.-K., Lu, J.-F. 2003. *Bt* rice pollen distribution on mulberry leaves near rice fields. *Acta Ecologica Sinica* 23: 826-833.
- 15 Hillbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P.M. & Bigler, F. 1998. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 27: 480-487; Hillbeck, A., Moar, W.J., Pusztai-Carey, M., Filippini, A. & Bigler, F. (1998) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 27: 1255-1263.
- 16 Wold, S.J., Burkness E.C., Hutchinson, W.D., Venette, R.C. 2001. In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *Journal of Entomological Science* 36: 177-187.
- 17 Cui, J. and J. Xia. 1998. Effects of transgenic *Bt* cotton (with early maturity) on population dynamics of main pests and their natural enemies. *Acta Gossypii Sinica* 10: 255-262.
- 18 Cui, J. and J. Xia. 1999. Effects of transgenic *Bt* cotton on the population dynamics of natural enemies. *Acta Gossypii Sinica* 11: 84-91
- 19 Saxena, D. Stewart, CN, Altosaar, I. Shu, Q. & Stozky, G. 2004. Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton and tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 383-387.
- 20 Sun, C. Wu, Z., Zhang, Y. & Zhang, L. 2003. Effect of transgenic *Bt* rice planting on soil enzyme activities. *Ying Yong Sgeng Tai Xue Bao* 14: 2261-2264.
- 21 Wu, W.-X., Ye, Q-F, Hang, M, Duan, X-J, Jin, W-M. (2004) *Bt*-transgenic rice straw affects the culturable microbiota and dehydrogenase and phosphatase activities in a flooded paddy soil. *Soil Biol Biochem* 36: 289-295.
- 22 Wu, W.-X., Ye, Q-F. & Min, H. (2004) Effect of straws from *Bt*-transgenic rice on selected biological activities in waterflooded soil. *Eur J Soil Biol* 40: 15-22.
- 23 Saxena, D. & Stozky, G. 2001. *Bt* corn has a higher lignin content than non-*Bt* corn, *American Journal of Botany*. 88:1704-1706.

- 24 See for example Andow, D.A. 2001. Resisting resistance to *Bt* corn. In: *Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects*. Letourneau, D.K. and B.E. Burrows [eds.] Boca Raton, FL: CRC Press.
- 25 Lu, B.-R., Song, Z. & Chen, J. 2003. Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? *Progress in Natural Science* 13: 17-24. Song, Z.P., Lu, B-R., Zhu, Y.G. & Chen, J.K. 2003. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytologist* 157: 657-665. Song, Z.P., Lu, B-R., Zhu, Y.G. & Chen, J.K. 2004. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodiversity and Conservation* 13: 579-90.
- 26 Stewart, Jr., C.N., J.N. All, P.L., Raymer, and S. Ramachandran. 1997. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Molecular Ecology* 6: 773-779. Vacher, C., A.E. Weis, D. Hermann, T. Kossler, C. Young, M.E. Hochberg 2004. Impact of ecological factors on the initial invasion of *Bt* transgenes into wild populations of birdseed rape (*Brassica rapa*) *Theoretical and Applied Genetics* 109: 806-814.
- 27 Gao, L. 2004. Population structure and conservation genetics of wild rice *Oryza rufipogon* (Poaceae): a region-wide perspective from microsatellite variation *Molecular Ecology* 13: 1009-1024.
- 28 Song, Z.P., Lu, B.-R., Zhu, Y.G. & Chen, J.K. 2003. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytologist* 157: 657-665
- 29 Song Z. P., Xu, X. Wang, B., Chen, J,K, & Lu, B-R. 2003. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 1492-1499.
- 30 Messeguer, J. Marfa, V. Catala, MM, Guideroni, E. & Mele, E. 2004. A field study of pollen mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Molecular Biology* 13: 103-112.
- 31 Zhang, N. Linscombe, S. & Oard, J. 2003. Out-crossing frequency and genetic analysis of hybrids between transgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice. *Euphytica* 130: 35-45.
- 32 Song, Z.P Lu, B-R & Chen JK. 2004. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodiversity and Conservation* 13: 579-90.

