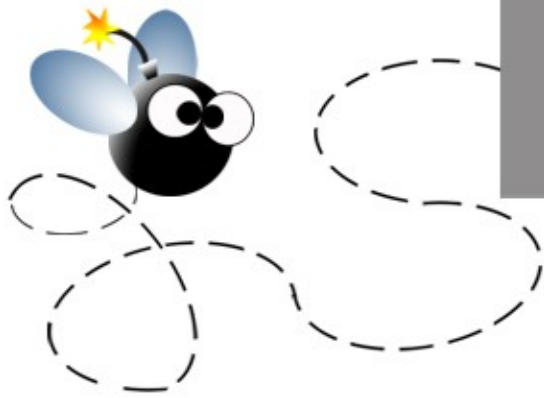


# Con la mosca transgénica detrás de la oreja



¿Una manera de luchar contra  
la plaga de la mosca del olivo?



**Amigos de  
la Tierra**

La empresa británica Oxitec ha desarrollado moscas del olivo modificadas genéticamente (MG) con el propósito de liberarlas en plantaciones de olivo al aire libre. Oxitec ha solicitado autorización para realizar las primeras liberaciones experimentales en olivares de Tarragona, aunque han declarado que también quiere liberar moscas transgénicas en otros países como Italia, Grecia y Marruecos.

En este informe se analizan los principales problemas asociados a estos experimentos y se muestran los argumentos desde el punto de vista legislativo, agronómico, medioambiental y de la salud por los que las autoridades competentes deben rechazar la solicitud.

### Oxitec: la empresa

Oxitec es una empresa británica dedicada a la producción de insectos modificados genéticamente. Su objetivo es crear un mercado global de insectos transgénicos para su liberación en el medio ambiente. La empresa es una spin-off de la Universidad de Oxford que gestiona sus inversiones a través del Oxford Spin-out Equity Management<sup>1</sup>. Otros inversores conocidos son el multimillonario de Boston Landon Clay, Oxford Capital Partners<sup>2</sup>, y desde 2012 Asia Pacific Capital<sup>3</sup>. Entre los pequeños inversores se encuentran algunos investigadores del sector<sup>4</sup>. La empresa ha recibido más de 1,5 millones de libras de fondos de investigación del Gobierno Británico, y Hacienda por su parte ha eximido de impuestos a los inversores con el objetivo de que la empresa crezca lo suficiente para alcanzar una Oferta Pública Inicial de Acciones (IPO por sus siglas en inglés)<sup>5 6</sup>. Asimismo el Ministerio de Comercio e Inversión ha contactado con embajadas de todo el mundo para que Oxitec disponga de mercados seguros para sus insectos transgénicos<sup>7</sup>.

Oxitec tiene además fuertes vínculos con la empresa de semillas y agroquímicos Syngenta: la mayoría de sus gestores, incluyendo al Presidente Ejecutivo Haydn Parry, y dos miembros del Consejo, eran antes personal de Syngenta<sup>8</sup>. Desde marzo de 2009 hasta Junio de 2011 Oxitec recibió fondos para investigación directamente de Syngenta para estudiar la transformación genética de insectos lepidópteros (un orden de insectos que incluye algunas plagas importantes como el gusano rosa del algodón, o el gusano de las coles)<sup>9 10</sup>. Ambas empresas, Oxitec y Syngenta, comparten consultoría y agencia de relaciones públicas. La primera es una empresa gestionada por Colin Ruscoe, miembro a su vez del Consejo Británico de Protección de Cultivos<sup>11</sup> y la segunda la gestiona la mujer de Parry<sup>12</sup>, Presidente Ejecutivo de Oxitec.

### Los productos de Oxitec

Además de moscas del olivo, Oxitec está desarrollando otras plagas agrícolas modificadas genéticamente, como la mosca de la fruta, el gusano del algodón y el gusano de la col. Todos los insectos transgénicos de la empresa están pensados para ser liberados en campo abierto y a gran escala (varios millones si es un experimento o billones si es una liberación comercial) para que se apareen con los ejemplares silvestres. Los insectos están modificados genéticamente para expresar un rasgo “fluorescente” y otro de “letalidad retardada”, que implica que la mayoría de las crías femeninas fruto de estos apareamientos mueren antes de la fase adulta y por tanto no se pueden reproducir. El objetivo final es disminuir el número de insectos silvestres. El negocio de Oxitec se basa en que sus clientes dependan de liberar de manera continua (con sus consecuentes pagos a la empresa) insectos transgénicos para mantener bajo el número de insectos silvestres. Oxitec denomina a esta tecnología patentada “Liberación de Insectos con sistema Dominante Leta” (RIDL por sus siglas en inglés)

Oxitec realizó las primeras liberaciones de mosquitos MG en las Islas Caimán, una colonia británica, a finales de 2009. Los experimentos se desarrollaron sin una ley de bioseguridad y sin publicar una evaluación del riesgo ambiental. La empresa fue muy criticada por científicos del sector debido a su secretismo, la falta de revisión por pares habitual en publicaciones científicas en aspectos de bioseguridad<sup>13 14</sup> y la escasa calidad de sus evaluaciones de riesgo. Estos documentos solo fueron públicos después de las liberaciones, mediante una solicitud de información y preguntas parlamentarias, bajo la legislación británica y europea.

El único país que actualmente está liberando mosquitos transgénicos de Oxitec en experimentos a gran escala es Brasil, después de que los gobiernos de Brasil y Reino Unido llegasen a un acuerdo secreto en 2007<sup>15</sup>. Mientras, otros experimentos a menor escala en las Islas Caimán<sup>16</sup> y Malasia<sup>17 18</sup> se han parado y las propuestas para experimentar en los cayos de Florida y Panamá están a la espera de las evaluaciones marcadas por la legislación.

Los experimentos plantean multitud de cuestiones éticas, científicas y regulatorias<sup>19</sup>. Por ejemplo según el Protocolo de Cartagena de Bioseguridad, al exportar huevos de insecto transgénico para su liberación a campo abierto en otros países, Oxitec debe presentar una evaluación de riesgo que cumpla con los estándares de la Unión Europea (UE) y enviarla a las autoridades europeas y británicas para que esté disponible para el público. Oxitec no ha seguido este proceso correctamente en ninguna de sus exportaciones hasta la fecha y las evaluaciones de riesgo no cumplen con los estándares de la UE. Sin embargo Oxitec ha hecho múltiples declaraciones, no fundamentadas, acerca del beneficio de sus experimentos para la población local.

Los mosquitos transgénicos con los que actualmente se experimenta en Brasil son distintos de las plagas MG. En el caso de los mosquitos transgénicos ambos sexos están modificados para morir en fase de larva o pupa. En el caso de las plagas MG de Oxitec solo las hembras mueren y los machos sí alcanzan la fase adulta (Esto se conoce como estrategia de “muerte de las hembras”<sup>20</sup>).

Hasta la fecha el único experimento abierto con plagas transgénicos ha sido en Estados Unidos con el gusano del algodón, solo con el rasgo fluorescente y esterilizados mediante radiación. Estos experimentos se pararon debido a la inquietud de los agricultores ecológicos de EEUU. Incluso el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), concretamente la Oficina del Inspector General, elaboró un informe muy crítico con el experimento<sup>21</sup>.

En 2011 en Reino Unido Oxitec intentó hacer liberaciones abiertas de gusanos de la col modificados genéticamente según las regulaciones “uso confinado” ya que consideraban que la tecnología RIDL es equivalente a una “confinación biológica”. Las solicitudes fueron denegadas.

Los socios brasileños de Oxitec, Moscamed, solicitaron autorización para liberar moscas de la fruta transgénicas en enero de 2013<sup>22</sup>. No está disponible para el público la evaluación de riesgo para esta solicitud y aún no se ha aprobado.

Por lo tanto si se aprobase la solicitud para liberar moscas de olivo modificadas genéticamente en Cataluña, sería la primera liberación en el mundo de insectos transgénicos con el rasgo de muerte de las hembras. Oxitec ha indicado en su solicitud que también planea liberar moscas MG en Italia. Otros países mencionados por Oxitec como posibles futuros mercados para la mosca transgénica del olivo son Grecia, Israel y Marruecos.

### Las moscas transgénicas de Oxitec y el experimento propuesto

Las moscas transgénicas del olivo se describen en un artículo científico publicado por investigadores de la empresa<sup>23</sup>. Las moscas del olivo MG tienen un rasgo que hace morir a las hembras: las crías macho sobreviven a la fase adulta pero las hembras mueren en fase de larva o de pupa en ausencia del antibiótico tetracyclina (que se usa como un antídoto para el mecanismo genético de muerte, para producir insectos en el laboratorio). Los insectos están también modificados genéticamente para que se vean fluorescentes al observarlos al microscopio.

El “rasgo de letalidad condicional” se crea modificando genéticamente a las hembras para expresar una proteína llamada tTA (transactivador controlado por tetracyclina). Los elevados niveles de expresión de esta proteína matan al insecto en fase larvaria, aunque los mecanismos por los que esto sucede no se conocen en profundidad. La

tetracyclina (un antibiótico usado habitualmente en agricultura y medicina) se une a la proteína tTA e impide que se exprese más, de manera que el insecto sobrevive hasta la fase adulta. Esto permite que se puedan criar moscas en el laboratorio, alimentándolas con el antibiótico, que actúa como antídoto del mecanismo genético de muerte.

La solicitud actual de Oxitec es para la liberación experimental de su evento OX3097D-Bol de mosca transgénica del olivo. El experimento se realizaría en una zona olivarera aproximadamente a 8 km del puerto de Tarragona, en Cataluña en seis parcelas cubiertas por redes en una superficie de 1000km<sup>2</sup> durante un periodo de 8 semanas<sup>24</sup>. El número de moscas transgénicas que se liberará no aparece en la solicitud, ya que dependerá del número de moscas silvestres. No se espera que la red contenga totalmente a las moscas transgénicas, es decir, no es una jaula, Oxitec cuenta con que los reptiles, pequeños mamíferos y pájaros estén también presentes en el lugar de experimentación. Se desplegarán trampas antes, durante y después de la liberación tanto dentro como fuera de la red para monitorizar el número de ejemplares. Los objetivos del experimento son:

- Establecer el comportamiento de las moscas transgénicas del olivo cuando compiten con machos y hembras silvestres.
- Obtener información sobre la longevidad de la mosca MG en el medio ambiente
- Evaluar diferentes métodos de liberación.

Oxitec ha presentado resultados de experimentos confinados que analizaban el apareamiento de la mosca MG y los impactos en las moscas silvestres, pero no ha publicado ningún estudio sobre bioseguridad. La solicitud de Oxitec no incluye planes para evaluar la bioseguridad ya que según la empresa los riesgos de las moscas transgénicas son insignificantes.

### La producción olivarera

La Unión Europea es líder global en el mercado olivarero, con una producción que alcanza el 70% del total, y el principal exportador neto a áreas no productoras<sup>25</sup>. Solo España produce el 36% del aceite de oliva del mundo. El sector tiene una importante contribución a las economías de Grecia, Italia y Portugal y es también importante para Croacia, Chipre, Francia y Eslovenia. Malta también produce cantidades menores. La mayor concentración de producción de aceite de oliva se encuentra en dos provincias españolas Córdoba y Jaén, que suponen un tercio de la producción total europea.

El manejo del olivar es muy variable, desde plantaciones tradicionales con muy pocos insumos hasta modernas plantaciones súper intensivas. Además hay una tendencia

creciente al manejo ecológico sin insumos químicos, y sujetos a los estándares de producción más exigentes.

La producción ecológica de olivo en el Estado Español juega un papel clave en la conservación del territorio y el desarrollo del sector ecológico. Los últimos datos disponibles muestran el fuerte crecimiento anual, en 2011 se cultivaron 168.619 has, lo que supuso un incremento del 33,48% respecto al año anterior. A su vez, supone el 8,91% del total inscrito y el 23,72% de la superficie cultivada<sup>26</sup>

La mayor parte de la producción se destina a la producción de aceite y el resto se consume como aceituna de mesa.

Mantener el valor del producto y evitar su homogeneización son puntos críticos para la cadena de valor del aceite y la sostenibilidad se considera un imperativo en Europa<sup>27</sup>.

También se encuentran plantaciones de olivo en todo el área mediterránea incluyendo países de fuera de la UE como Marruecos, Túnez, Turquía, Siria, Albania, Montenegro, Serbia, Egipto, Jordania, Líbano, Israel y Palestina. Entre todos ellos los países mediterráneos proporcionan aproximadamente el 90% del aceite de oliva del mercado internacional.

Fuera de la región mediterránea EEUU, Argentina y Perú son los mayores productores de oliva<sup>28</sup>.

### La mosca del olivo

La mosca del olivo (*Bactrocera oleae*) es la principal plaga del olivo. Otras plagas importantes son: el gusano del olivo (*Prays oleae*) y la cochinilla de la tizne (*Saissetia oleae*)<sup>29</sup>. Las tres están muy extendidas en los olivares de la región mediterránea y causan pérdidas económicas significativas. Las pérdidas debidas a la mosca del olivo se estiman en torno al 5% de la producción, 800 millones de dólares al año<sup>30</sup>.

La mosca del olivo está presente como plaga en la cuenca mediterránea desde hace más de 2000 años, aunque aparentemente se originó en África. También está presente en Oriente Próximo y Medio y ahora se ha extendido por California, probablemente procedente de aceitunas importadas del área mediterránea. Se ha encontrado también en América Central y en olivos silvestres de China, pero aún no se conoce su presencia en Sudamérica o Australia.

Las hembras de la mosca del olivo ponen sus huevos en los frutos maduros, donde las larvas recién eclosionadas se alimentan hasta que se convierten en pupa, bien en la misma aceituna o bien salen del fruto y se transforman en el suelo. El daño se produce de diferentes maneras: cuando las hembras perforan los frutos verdes para poner los huevos pueden caer al suelo, además la larva consume parte de la cosecha, las larvas

presentes en las aceitunas impiden que se vendan como aceituna de mesa (aunque se admite una cierta contaminación para la producción de aceite) y por último la presencia de bacterias, levaduras y mohos en las aceitunas dañadas aumenta la acidez del aceite, baja su calidad y en consecuencia su valor comercial.

Las larvas de la mosca de la oliva se alimentan exclusivamente de la aceituna, pero los adultos tienen una dieta variada que incluye insectos, néctar de plantas, melaza producida por pulgones, polen y savia. También aprovechan los nutrientes presentes en los excrementos de pájaros y levaduras. El desarrollo de la larva depende de la temperatura, con un umbral inferior entre 7.5°C y 10°C y superior de 30 a 32°C. En la mayor parte de las regiones la mosca del olivo prefiere el otoño para desarrollarse, cuando las aceitunas están en las mejores condiciones para el crecimiento de la larva y entrar en estado latente en el invierno. No está claro si las altas temperaturas en verano y la baja humedad pueden causar que la mosca se disperse hacia sitios más frescos<sup>31</sup>.

Las hembras adultas pueden poner entre 50 y 400 huevos, normalmente uno en cada aceituna<sup>32</sup>. Los huevos eclosionan en 2 ó 3 días, las larvas necesitan aproximadamente 20 días para desarrollarse y las pupas entre 8 y 10. Los adultos viven entre 2 y 7 meses. Las moscas del olivo normalmente permanecen en la misma plantación pero pueden desplazarse varios kilómetros: en California se expandió a un ritmo de unas 100 millas por año. En Europa el umbral de daño para la aceituna de mesa es del 1% y para aceite de 10%. El número de larvas por fruto es bajo en Europa pero hay pruebas de una mayor competencia por los recursos en las moscas de California, con cantidades de hasta 11 larvas en un solo fruto en algunas plantaciones<sup>33</sup>.

El número de generaciones de moscas en cada estación difiere según la zona de Europa. En España la mosca del olivo normalmente tiene tres generaciones al año del verano al otoño, y pasa el invierno bajo tierra. Las pupas de la mosca del olivo pueden hibernar en el suelo, sin embargo el laboreo parece ser menos efectivo para destruirlas de lo que se pensaba<sup>34</sup>.

### Estrategias de control de la mosca del olivo

La sostenibilidad ambiental se considera un factor clave en muchos de los retos que afronta la industria olivarera hoy día, incluida la gestión de plagas y enfermedades<sup>35</sup>.

Los insecticidas organofosforados (dimetoato y fention) se han usado durante muchos años para combatir la mosca del olivo en las plantaciones convencionales de Europa. Sin embargo el daño ambiental y los costes del tratamiento son significativos y hay también problemas de contaminación de los aceites de la oliva por residuos de pesticidas<sup>36 37</sup>. El uso de piretroides (por ejemplo deltametrina) ha aumentado



recientemente. Algunos insecticidas usados en el olivar como el dimetoato son culpables de la reducción de especies de insectos, entre ellos algunos que pueden ayudar al control de plagas. Las poblaciones de mosca del olivo han desarrollado niveles variables de resistencia a los insecticidas organofosforados y también se han hallado resistencias a los piretroides. Más recientemente se ha incorporado el insecticida espinosad (basado en un compuesto hallado en las especies de bacterias *S. spinosa*) a un cebo (GF-120 Naturalyte, comercializado por Dow Agrosiences) para aumentar la eficacia con menos ingredientes activos<sup>38</sup>.

El programa LIFE de la Comisión Europea desarrolló una guía para mejorar el cultivo y procesado de la aceituna en la que se promueven técnicas respetuosas con el medio ambiente incluyendo métodos para minimizar la aplicación de insecticidas<sup>39</sup>. Cuando se usan insecticidas el momento de la aplicación es muy importante para minimizar su uso y mejorar la eficacia<sup>40</sup>.

Las trampas masivas son otra estrategia que puede reducir las fumigaciones. Los olivicultores ecológicos en España usan la trampa OLIFE (Olivarera de Pedroches, lleva el nombre de la cooperativa de aceite ecológico que la inventó) que puede mantener el daño de la mosca del olivo por debajo del 10%<sup>41</sup>. La trampa está hecha con una botella de plástico que contiene una solución de levaduras cebo. Las trampas de feromonas (un tipo de trampas que emplea feromonas para atraer a los insectos)<sup>42</sup> han mejorado significativamente la tasa de capturas y se puede combinar con otras estrategias como la recolección temprana de las aceitunas para reducir el daño. Las trampas por sí solas no reducen el daño suficientemente para la producción de aceite de oliva de alta calidad pero pueden dar buenos resultados combinadas con fumigaciones con hidróxido de cobre (un fungicida-bactericida muy usado y permitido en agricultura ecológica y convencional)<sup>43</sup>

Más recientemente se ha introducido la tecnología de capa de partículas, basada en la fumigación a presión de una barrera protectora de caolín. Ha mostrado una reducción significativa de la incidencia tanto de la mosca del olivo como de la cochinilla de la tizne. El caolín no tiene efectos negativos en la salud humana o el medio ambiente y no puede producir resistencias, sin embargo algunas investigaciones sugieren que la fumigación puede reducir el número de otros insectos incluyendo enemigos naturales de la mosca del olivo, y reducir la biodiversidad.<sup>44</sup>

En California, la lucha contra la mosca del olivo se afronta con el uso de trampas para atraer y matar al insecto (ya sean comerciales o caseras); la fumigación con caolín y/o el insecticida “cebo” IGF-120 Naturalyte (no está permitido ningún otro)<sup>45</sup> Las medidas higiénicas en la plantación como eliminar la fruta caída también pueden reducir la afección.



Por consiguiente ha habido varias mejoras en el control de la mosca del olivo, aunque se sigue investigando en nuevos métodos. Se ha intentado el control biológico de la mosca del olivo con enemigos naturales (parasitoides) pero los resultados han sido limitados hasta la fecha. Sin embargo hay expectativas de mejora en base a investigaciones más profundas<sup>46 47</sup>. También se está investigando con pesticidas microbianos como algunas cepas de bacterias, se consideran una alternativa más respetuosa con el medio ambiente respecto a los pesticidas existentes ya que tienen baja toxicidad y son altamente biodegradables<sup>48</sup>. Los reguladores del crecimiento de los insectos son otra alternativa potencial con baja toxicidad para los humanos y riesgo reducido de daño a organismos beneficiosos.<sup>49 50</sup>

También es posible que la clásica Técnica de Esterilización de Insectos (TEI) usando insectos irradiados se mejore lo suficiente para su uso en el olivar sin necesidad de recurrir a insectos transgénicos, especialmente sin correr los riesgos asociados a la mortalidad en fase larvaria en vez de la esterilización total. La Técnica de Esterilización de Insectos consiste en la liberación de un elevado número de insectos macho irradiados, y por tanto estériles, para que se apareen con la plaga silvestre. Los apareamientos entre las hembras silvestres y los machos estériles pueden controlar la población silvestre y, si se dan liberaciones a gran escala durante bastante tiempo, se podría llegar a eliminar la población. Las dificultades de aplicación de esta técnica a la mosca del olivo se deben fundamentalmente a los problemas para producir grandes cantidades de moscas en laboratorio. Actualmente se está investigando la mejora de la dieta de las moscas criadas en laboratorio (incluyendo el enriquecimiento con bacterias, que parece tener un efecto importante en otros tipos de mosca de la fruta<sup>51</sup>) y otros métodos que mejoren la calidad.<sup>52</sup>

Otra estrategia alternativa (que ya se está probando con mosquitos en el campo<sup>53</sup>) consiste en la infección de la plaga con *Wolbachia*, un tipo de bacteria que provoca la esterilidad en las hembras que se aparean con los machos infectados<sup>54 55</sup>. Los enemigos naturales como el parasitoide *Opius Concolor* pueden reducir el desarrollo de la plaga ya que se nutren de las pupas y se reduce así el crecimiento poblacional<sup>56</sup>.

Las variedades de olivo presentan diferentes grados de susceptibilidad a la infección por la mosca del olivo pero no se conocen intentos de plantar variedades resistentes, o bien olivos con frutos más pequeños que sirvan de setos vivos que puedan alojar parasitoides<sup>57</sup>. Sin embargo las estrategias agroecológicas como estas podrían tener un potencial importante para reducir la infestación de los olivares.

### Moscas transgénicas: ¿protegen a los olivos de la plaga?

*“(La letalidad retardada) consiste en que las crías resultantes del apareamiento entre los artrópodos liberados y la población silvestre contienen el transgén y sobreviven más allá de la fase embrionaria. Para moscas de la fruta esta estrategia sería perjudicial ya que se producirían daños importantes de las larvas en la producción agraria” Informe de expertos para la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria, 2010.<sup>58</sup>*

Oxitec describe su mosca transgénica del olivo como una mejora de la Técnica de Esterilización de Insectos que se ha utilizado con éxito en otras especies de plagas, pero que hasta ahora no ha tenido éxito con la mosca del olivo.

Sin embargo en comparación con esta técnica, el principal problema en la utilización de las plagas transgénicas de Oxitec es que en vez de ser estériles, las crías hembras fruto de los apareamientos entre machos transgénicos y hembras silvestres mueren mayoritariamente en la fase de larva o de pupa, es decir hacia el final de la fase de larva.

Las moscas del olivo causan daños a la fruta en la fase larvaria, así que la estrategia de Oxitec no puede evitar significativamente, o en grado alguno, el daño a la cosecha, incluso aunque efectivamente se redujese la población silvestre. El hecho de que las crías hembras de los insectos GM de Oxitec sobrevivan hasta la fase final de la larva o inicial de la pupa (en ausencia de tetracyclina) es accidental: si el mecanismo genético de Oxitec provocase esterilidad, de forma que no llegase a haber huevos o larvas, se evitaría el daño que las larvas transgénicas pueden provocar en la producción.

Un segundo problema es la eficacia de esta estrategia en reducir realmente la población de mosca del olivo y la cantidad de machos transgénicos que se deben soltar en relación al número de machos silvestres. En los ensayos con mosquitos MG Oxitec usó proporciones de hasta 54 – 1 (54 machos transgénicos por cada macho silvestre) antes de observar disminución alguna en la población silvestre.<sup>59</sup> Así que el número de machos transgénicos tiene que superar con creces el número de machos silvestres para que los apareamientos tengan resultados. Las enormes cantidades de machos MG que se necesitan hacen pensar que los insectos transgénicos de Oxitec no son más competitivos con los machos silvestres que los insectos irradiados.

Una diferencia importante entre la TEI usando insectos irradiados y la liberación de insectos MG es que la esterilidad causada por irradiación funciona causando daños a múltiples zonas del ADN del insecto, mientras que el sistema RIDL depende de una modificación genética específica. Esto significa que a diferencia de los insectos irradiados, los transgénicos que sobrevivan y se reproduzcan - es decir que superen el mecanismo genético de “letalidad retardada” - pueden desarrollarse fácilmente durante la producción a gran escala.<sup>60</sup> Si esto sucediese, el efecto de letalidad podría

desaparecer muy rápido mientras la resistencia se desarrolla en las instalaciones de producción o en el campo. Oxitec ha publicado algunos modelos matemáticos de cómo la resistencia a RIDL podría evolucionar<sup>61</sup> Otro mecanismo potencial de resistencia sería que las hembras silvestres lleguen a ser no receptivas al apareamiento con los machos liberados.<sup>62</sup> Esto supondría que incluso aunque se redujese la población, la resistencia podría desarrollarse de forma relativamente rápida.

La producción a gran escala de insectos MG también dará lugar a que se pierda la aptitud de los insectos (debido a la endogamia, lo que se conoce como “efecto colonia”).<sup>63</sup> La pérdida de aptitud significa que cada vez menos machos se van a aparear con las hembras silvestres y se reduce así la efectividad. En el uso de TEI, se pueden añadir insectos silvestres a la colonia antes de la irradiación con el objetivo de reducir la aptitud. En cambio con la técnica RIDL se tienen que hacer nuevos apareamientos entre la línea parental de los mosquitos transgénicos y nuevos mosquitos silvestres de forma periódica para introducirlos e incrementar la aptitud de la colonia.

La inmigración y emigración de moscas del olivo puede contribuir a los niveles de moscas del olivo en primavera y verano<sup>64</sup> lo que puede complicar mucho la efectividad de cualquier programa de reducción de población, dado que las moscas del olivo de plantaciones vecinas pueden aprovecharse de la reducción de competencia si se consigue una reducción de la población. Una vez más esto limitaría mucho los resultados de la estrategia.

Otro problema potencial importante es la dificultad que presenta el uso de una estrategia específica para una especie cuando existen múltiples plagas. Aunque actualmente la mosca del olivo es la plaga principal, esta situación podría cambiar si las moscas de Oxitec lograsen de hecho reducir su número. Las moscas del olivo compiten con otras especies por los recursos. Si la población de mosca del olivo se redujese, incluso temporalmente, la polilla del olivo y la cochinilla de la tizne podrían aumentar su número.

Esta situación se puede considerar análoga a los problemas con los cultivos transgénicos resistentes a plagas (cultivos Bt) que se cultivan en China y Brasil. En las plantaciones de algodón transgénico en China las plagas secundarias que no están afectadas por la toxina Bt se han convertido en un problema grave.<sup>65 66 67</sup>

En Brasil el Ministerio de Agricultura lanzó recientemente una alerta por el ataque masivo del gusano de la col (*Helicoverpa armigera*) en las áreas en que se cultivaba maíz Bt.<sup>68</sup> Estos ejemplos muestran cómo reducir la competencia o los enemigos naturales pueden fácilmente provocar un boom de otras plagas.

Combinar la fumigación (incluidas sustancias permitidas en el cultivo ecológico) con la liberación de insectos transgénicos puede ser además difícil ya que, al fumigar con

sustancias que afecten a los insectos MG, se puede reducir la efectividad potencial de posteriores liberaciones.

### Moscas del olivo transgénicas en la cadena alimentaria

*“El aceite de oliva debe tener un etiquetado claro para informar al consumidor de sus valores intrínsecos y de su lugar de origen, y proporcionar además una manera de distinguirlo de aceites de peor calidad y/o imitaciones. La transparencia debe ser fomentada a través de los instrumentos adecuados. Solo cuando se está familiarizado con un producto se llega a apreciarlo de verdad, estando dispuesto a pagar su precio y comprender que el dinero gastado merece la pena.”* Benedetto Orlandi, Presidente del COPA (Comité de las Organizaciones Profesionales Agrarias) – COGECA (Comité General del Cooperativismo Agrario de la Unión Europea”). Grupo de trabajo sobre aceite de oliva y aceites de mesa, 2010.<sup>69</sup>

Al morir casi todas las larvas de las moscas de Oxitec al final del estado larvario o de pupa, muchas larvas de mosca transgénica pueden morir dentro de la aceituna donde la hembra ha puesto sus huevos. Si estas moscas MG se utilizasen para la producción comercial, muchas larvas muertas de mosca transgénica, y algunas vivas, entrarían probablemente en la cadena alimentaria. Y es muy dudoso que este hecho sea aceptado por las personas consumidoras o la industria. Sin la aceptación de consumidores y la industria los ensayos experimentales representan un riesgo y un gasto económico innecesarios. Si los experimentos salen adelante, será importante tomar las medidas necesarias para prevenir que ninguna aceituna o aceite producidos durante las liberaciones experimentales de moscas transgénicas alcancen la cadena alimentaria.

En su estudio científico sobre moscas del olivo MG, Oxitec argumenta que el hecho de que los insectos transgénicos entren en la cadena alimentaria debe estar fuera del ámbito de la normativa, del mismo modo que los alimentos producidos por fermentación con microorganismos transgénicos, en los que el OMG no está presente en el producto final. Argumentan también que cualquier insecto transgénico presente en alimentos debe ser considerado como “técnicamente inevitable”, para evitar la obligación de etiquetar el alimento como transgénico. Sin embargo, al no ser estériles las moscas del olivo transgénicas de Oxitec, si no que producen crías hembras genéticamente programadas para morir en estado de larva o pupa, está claro que en la cadena alimentaria van a entrar un gran número de larvas muertas de una manera que no puede ser considerada como accidental o inevitable. Además, podría haber larvas transgénicas supervivientes, o machos vivos (que alcanzan la fase adulta). Bajo la legislación comunitaria, los alimentos que contengan organismos modificados

genéticamente están regulados y deben ser etiquetados y tener una trazabilidad clara, además de estar sujetos a evaluaciones de seguridad alimentaria.

Sin embargo, hay mucha incertidumbre sobre cómo los legisladores van a gestionar la presencia de insectos transgénicos en la cadena alimentaria. La guía de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria sobre la Evaluación de Riesgos Ambientales de los Animales Modificados Genéticamente<sup>70</sup> afirma: *“Esta Guía considera en primer lugar los efectos de los animales MG en la salud humana a través de medios de exposición distintos de la ingesta o consumo... Sin embargo, los solicitantes deberían también evaluar la probabilidad de que los humanos se expongan a los animales MG o sus productos que no están pensados para su uso como alimento humano o animal. Si tal exposición es probable y la ingestión o consumo se da a unos niveles que podrían potencialmente poner en riesgo a los humanos, entonces los solicitantes deben aplicar los procedimientos de evaluación descritos en la Guía de la EFSA para la evaluación de riesgos de alimentos y piensos de animales transgénicos y para salud y bienestar animal...”* Sin embargo la Guía de la EFSA para la evaluación de riesgo de alimentos y piensos de animales modificados genéticamente excluye explícitamente la consideración de insectos MG en la cadena alimentaria, en base a que los insectos no se suelen consumir como alimentos. El hecho de que la EFSA no considere la presencia de los insectos MG en la cadena alimentaria es objeto actualmente de una queja de GeneWatch ante el Defensor del Pueblo Europeo.

Además no ha habido ningún tipo de consulta con olivareros, minoristas o consumidores acerca de la trazabilidad y las exigencias de etiquetado para el uso de moscas transgénicas en la producción olivarera; tampoco se han desarrollado indicaciones para afrontar el problema de la coexistencia con productores ecológicos o convencionales que no quieren que las moscas transgénicas entren en contacto con su producción.

Esto es especialmente importante dado que las liberaciones de gusanos de la col fluorescentes en Estados Unidos se pararon en parte por las dudas sobre la incompatibilidad con la certificación ecológica. Si no se resuelven estos aspectos podría haber graves impactos negativos en el mercado aceitero debido al uso de moscas transgénicas.

En su solicitud Oxitec presenta una referencia sobre el estudio de la toxicidad del marcador de fluorescencia roja, DsRed2, pero no hay pruebas sobre la seguridad del mecanismo genético RIDL, y los altos niveles de expresión de la proteína tTA que matan al insecto en fase larvaria. El mecanismo de acción no se comprende completamente y parece que no se dispone de datos que avalen su seguridad. Hay pruebas de que la expresión reforzada de tTA puede tener efectos adversos en ratones transgénicos<sup>71</sup> (pérdida de neuronas que afectaría a la conducta cognitiva)

### Las moscas transgénicas en el medio ambiente

En su solicitud, Oxitec afirma que los potenciales impactos ambientales de su experimento son insignificantes dadas las condiciones del ensayo y que no es necesaria la supervisión del ecosistema. Sin embargo en el documento de solicitud no hay ninguna prueba que fundamente estas afirmaciones.

Oxitec declara que situará trampas estándar de mosca del olivo, como las trampas McPhail o las trampas amarillas con pegamento, dentro de los lugares de liberación y fuera de las redes para monitorizar la población de moscas. Pero hay estudios recientes que concluyen que las trampas amarillas con pegamento ofrecen una representación muy pobre de la densidad de mosca en el olivar, y también que las trampas McPhail solo capturaban el 0.5% de las moscas presentes en un radio de 20 m en el campo estudiado<sup>72</sup> Oxitec también declara que se pueden detectar las moscas transgénicas con el marcador fluorescente DsRed2, pero un estudio realizado por la empresa usuaria de sus gusanos transgénicos halló que el rasgo de fluorescencia empezaba a desaparecer a los pocos días de ser capturadas en las trampas, especialmente si el tiempo es caluroso<sup>73</sup> En el documento de solicitud no hay propuestas respecto al seguimiento de los impactos en otras especies, como el posible aumento de las plagas no-objetivo (principalmente la polilla del olivo, *Prays oleae* y la cochinilla de la tizne, *Saissetia oleae*). Se hace difícil por tanto confiar en los planes de seguimiento de Oxitec o en la capacidad de sus experimentos para detectar potenciales efectos adversos.

Antes incluso de las implicaciones de la liberación de moscas del olivo transgénicas es importante tener en cuenta la propia cepa de mosca. Según la solicitud de Oxitec las líneas parentales de las moscas transgénicas se originaron en Grecia y se han cruzado con otras cepas de la Cuenca mediterránea. Su publicación explica que para ello se cruzó una cepa de un laboratorio griego (*Democritus*) durante cinco generaciones con la cepa de tipo silvestre *Agrov* de Israel. Aunque hay moscas del olivo nativas de España Oxitec ha desarrollado cepas no nativas, lo que tiene consecuencias importantes en el experimento. En Reino Unido no se permitió que Oxitec liberase polillas de la col modificadas genéticamente (*Plutella xylostella*) por las dudas que suponía el uso de una cepa norteamericana, que está sujeta a controles bajo las regulaciones de control de plagas de plantas.<sup>72</sup>

La liberación de cepas no nativas puede ser problemática si la cepa es resistente a los insecticidas o de algún modo tiene más posibilidades de sobrevivir o de causar mayor daño a los olivos que las cepas nativas de España. Oxitec no proporciona en su solicitud ninguna justificación de por qué liberar cepas no nativas. Asimismo no se muestran los resultados de ningún test de seguridad (por ejemplo de resistencia a insecticidas)

Entre las principales dudas acerca de la interacción de las moscas transgénicas del olivo en el medio ambiente encontramos:

- (1) Hasta qué punto las moscas transgénicas pueden dispersarse y criar.
- (2) Efectos adversos directos (por ejemplo toxicidad) en especies no –objetivo
- (3) Impactos en el ecosistema que puede tener la estrategia de reducción la población- incluyendo depredadores, presas y especies competidoras- especialmente le riesgo de que aumenten otros tipos de plagas.

Actualmente es muy limitado el conocimiento sobre los factores que afectan a la población de mosca del olivo y a sus enemigos naturales así como de las interacciones complejas entre los distintos componentes del agro ecosistema del olivar.<sup>73</sup> Dado que la estrategia de Oxitec se basa en la muerte de las hembras para sus plagas transgénicas los machos modificados genéticamente sobrevivirán múltiples generaciones, y se dispersarán ampliamente en el medio a no ser que se les contenga físicamente de algún modo.

Los experimentos propuestos son significativamente diferentes de los que actualmente tienen lugar en Brasil con mosquitos MG, ya que en estos las crías tanto hembras como machos están programadas para morir. Además es probable que sobrevivan algunas de las hembras transgénicas de mosca del olivo. Aunque Oxitec en su publicación afirma que el mecanismo de muerte es efectivo 100% no aporta información acerca del número de moscas con las que se ensayó. Dado el elevado número de moscas necesarias para la liberación abierta es casi inevitable que alguna hembra sobreviva y alcance la edad adulta. Si las moscas transgénicas encontrasen suficientes niveles de antibiótico tetracyclina en el ambiente, podrían aumentar las tasas de supervivencia. Las tasas de supervivencia de los mosquitos transgénicos de Oxitec llegan al 18% en presencia de comida de gato (que al contener carne industrial contiene antibiótico), y del 3-4% en presencia de comida de peces que se asume que no está contaminada<sup>74</sup>.

Los antibióticos de la clase de la tetracyclina son de los más usados en medicina tanto humana como animal<sup>75</sup> y se puede detectar su presencia en alimentos como la carne<sup>76</sup>, leche<sup>77</sup>, peces de piscifactoría<sup>78</sup> y miel<sup>79</sup>; también en las deyecciones animales<sup>80</sup> y en las aguas residuales<sup>81</sup>.

Dados los problemas de dispersión y supervivencia (especialmente la supervivencia de los machos) es imposible asegurar que se eliminen todas las moscas transgénicas del entorno en caso de que se detectasen efectos dañinos después de su liberación. Las moscas transgénicas (machos, o hembras supervivientes) pueden salir del lugar del experimento volando y los adultos o las larvas pueden transportarse a través de personas o materiales. Las moscas del olivo ya se han transportado por todo el mundo en aceitunas no tratadas como sucedió con la expansión del Mediterráneo a California. Algunas larvas podrían transportarse dentro de las aceitunas si no se destruyen completamente. Dado que algunas larvas recién eclosionadas abandonan el fruto para



transformarse en crisálida en el suelo, resulta difícil eliminar completamente todos los insectos transgénicos del lugar después del experimento.

La liberación intencionada de Organismos Modificados Genéticamente (OMGs), incluidos los insectos, está regulada por la Directiva 2001/18/EC. La liberación propuesta es un experimento (no una liberación comercial) por lo que la decisión de su aprobación recae en el estado miembro en el que se pretende realizar el experimento. A su vez según la regulación española las comunidades autónomas ostentan las competencias en materia de experimentos con OMGs por lo que es el Departamento de Agricultura de la Generalitat quien finalmente tiene que tomar la decisión de autorizar o no el experimento. Dadas las circunstancias del experimento propuesto y considerando que las moscas transgénicas pueden trasladarse lejos del lugar del ensayo la decisión a nivel local se muestra insuficiente sin una consulta más amplia.

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria publicó recientemente una guía en la que se esboza el tipo de pruebas que Oxitec debería proporcionar para una liberación a escala comercial<sup>82</sup>. Para la liberación de OMGs que no sean plantas la Directiva 2001/18/CE exige información sobre los siguientes aspectos (Anexo II, D.1):

- 1. Probabilidad de que el OMG llegue a ser permanente e invasivo en hábitats naturales con las mismas condiciones que la liberación propuesta.*
- 2. Cualquier ventaja o desventaja selectiva conferida al OMG y la probabilidad de que se hiciese efectiva en las condiciones de la liberación propuesta.*
- 3. Potencial de transferencia de genes del OMG a otras especies en las condiciones de la liberación y cualquier ventaja o desventaja selectiva que se pueda conferir a esas especies.*
- 4. Potencial inmediato y/o retardado de impactos ambientales debido a las interacciones directas e indirectas entre el OMG y organismos objetivo (si procede)*
- 5. Potencial inmediato y/o retardado de impactos ambientales debido a las interacciones directas e indirectas entre el OMG y organismos no-objetivo incluyendo el impacto en los niveles de población de competidores, presas, huéspedes, simbioses, depredadores, parásitos y patógenos*
- 6. Posibles efectos inmediatos y/o retardados en la salud humana como resultado de las potenciales interacciones directas e indirectas entre el OMG y las personas que trabajen con ellos, que entren en contacto o en los alrededores de la liberación del OMG.*
- 7. Posibles efectos inmediatos y/o retardados en la salud animal y consecuencias para la cadena alimentaria y de piensos del consumo del OMG o cualquier producto derivado de él, en caso de que esté pensado su uso como pienso animal.*

*8. Posibles efectos inmediatos y/o retardados en los procesos biogeoquímicos como resultado de las potenciales interacciones directas e indirectas entre el OMG y organismos objetivo y no-objetivo en los alrededores de la liberación.*

*9. Posibles impactos ambientales inmediatos y/o retardados, directos e indirectos del uso de técnicas específicas en el manejo del OMG en caso de que se trate de técnicas distintas de las usadas para no OMG.*

La Directiva 2001/18/CE exige que la introducción de OMGs en el medio ambiente se haga de acuerdo con el principio de “paso a paso”. Esto significa que la contención del OMG es reducida al principio y se va aumentando su escala gradualmente, paso a paso, pero solo si la evaluación en los primeros pasos, en cuanto a protección de la salud humana y el medio ambiente, indican que se puede proceder con seguridad a los siguientes. Por ello resulta importante señalar que Oxitec ha desarrollado algunos experimentos confinados en torno a la eficacia de su producto (por ejemplo si el apareamiento es adecuado) pero no han presentado pruebas de estudios de laboratorio o experimentos confinados en torno a aspectos de bioseguridad como:

- Test de toxicidad en otras especies (incluyendo humanos) del consumo de moscas del olivo transgénicas (en diferentes fases del ciclo de vida)
- Interacciones potenciales entre las liberaciones a gran escala de moscas del olivo transgénicas y otras especies (por ejemplo efectos en la competencia con otras plagas)
- Impactos de la contaminación ambiental con tetracyclina en las tasas de supervivencia de las larvas transgénicas.

Oxitec tampoco ha presentado datos sobre:

- El punto de partida del ecosistema del lugar de experimentación, incluyendo las fluctuaciones de la población de la mosca del olivo y las principales especies competidoras.
- Otras especies presentes en el lugar de liberación.

La empresa tampoco ha proporcionado modelos computacionales validados de los posibles impactos de la reducción de la población en el olivar objetivo en ecosistemas complejos (por ejemplo la posible influencia de las moscas de otras zonas o aumentos en plagas no-objetivo)

La solicitud de Oxitec es por tanto muy precipitada, ya que en su documento de solicitud falta la mayoría de la información necesaria para tomar una decisión fundamentada en cuanto a los posibles impactos ambientales del experimento.

### Conclusiones

El hecho de que las crías de mosca transgénica de Oxitec mueran en fase larvaria supone que puede seguir habiendo un daño significativo a la producción y que las aceitunas pueden estar contaminadas con un elevado número de larvas transgénicas muertas. Es difícil justificar los experimentos con moscas transgénicas propuestos por Oxitec en Cataluña ya que probablemente no cuenta con la aceptación ni de los productores de olivo ni de las personas consumidoras. La información disponible hasta el momento muestra que la efectividad de la estrategia es muy limitada y los riesgos muy altos, por ejemplo la dispersión de las moscas transgénicas fuera del lugar de experimentación o un posible aumento repentino de otros tipos de plagas.

Una lectura atenta del documento de solicitud entregado y la legislación vigente muestra que la solicitud es claramente prematura:

- La empresa no cumple con la estrategia “paso a paso” de liberación de OMGs y no proporciona ninguna prueba de que los riesgos ambientales y para la salud se han considerado apropiadamente. Ya sean pruebas de laboratorio o de experimentos confinados, monitorización del ecosistema o modelización.
- Hay aspectos regulatorios muy importantes acerca de la presencia de insectos transgénicos en la cadena alimentaria que se deben resolver antes de autorizar la liberación de insectos MG.

El uso comercial de la tecnología de Oxitec plantea preocupaciones importantes en torno a los potenciales impactos ambientales transnacionales y la pérdida de mercado para olivareros que rechacen los transgénicos. La investigación ya ha dado lugar a importantes mejoras en el control sostenible de la mosca del olivo y hay muchas otras alternativas con menos riesgos que se están investigando para su uso en un futuro próximo.

1<http://www.osem.ox.ac.uk/portfolio/index.html#healthCare>

2Fuentes: informes anuales de Oxitec, disponible en Companies House.

3Oxitec Secures £8 Million Investment to Continue Fight Against Dengue Fever. PR Newswire. 13th February 2012

4Ver, por ejemplo, declaraciones de interés en: Egger JR et al. (2008) Reconstructing historical changes in the force of infection of dengue fever in Singapore: implications for surveillance and control. *Bulletin of the World Health Organization*, **86**(3), 187–196

5Vincent M (2012) Tax relief extended to larger ventures. *Financial Times*. 23<sup>rd</sup> March 2012.  
<http://www.ft.com/cms/s/0/1c3ead22-74fb-11e1-a98b-00144feab49a.html#axzz1qAK8L5jm>

6GeneWatch UK (2010) Oxitec's GM mosquitoes: in the public interest? GeneWatch UK Briefing. December 2010. [http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Oxitecbrief\\_fin.pdf](http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Oxitecbrief_fin.pdf)

7UK Trade and Investment (2011) A bug's life: When Oxford-based biotech company Oxitec wanted to start trials of its mosquito-controlling technique in Brazil, UK Trade & Investment were on hand to help it find technical partners. UKTI Case Study.

8Miembros de Oxitec que trabajaron antes para Syngenta: Chief Executive Officer Haydn Parry; Regulatory Affairs Manager Camilla Beech; Head of Business Development Glen Slade; Chairman Christopher Richards and Board Member David Buckeridge; former Head of Business Development Ann Kramer; former Oxitec Business Development Manager (Americas) Joachim Prudencio Leao. In his online CV, Leao lists Syngenta as a client whilst he was an employee of Oxitec (2007-09).

9Jin L, Walker AS, Fu G, et al. (2013) Engineered Female-Specific Lethality for Control of Pest *Lepidoptera*. *ACS Synth Biol*. doi:10.1021/sb300123m.

10Declaration of Interest by Oxitec Chief Scientist and founder Luke Alpey to the EFSA GM Insects Working Group.

11 <http://uk.linkedin.com/in/colinruscoe>

12Hammond E (2013) Buzz or bust for genetically modified insects? Third World Network.

<http://www.twinside.org.sg/title2/biosafety/pdf/bio16.pdf>

13GM Mosquito Trial Strains Ties in Gates-Funded Project. *Science Insider*. 16 November 2010.

<http://news.sciencemag.org/scienceinsider/2010/11/gm-mosquito-trial-strains-ties.html?ref=hp>

14Reeves RG et al. (2012) Scientific Standards and the Regulation of Genetically Modified Insects. Lehane MJ, ed. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **6**(1), p.e1502.

<http://www.ploscollections.org/article/info%3Adoi>

[%2F10.1371%2Fjournal.pntd.0001502;jsessionid=C3DC4FD0650E395B0FD63D275A9703B5#pntd-0001502-g001](http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001502)

15Email From: [Redacted] Sent: 21 May 2007 19:23 Subject: [REDACTED] Minutes of our meeting in UKTI London on 25 April 07. Redacted document released to GeneWatch UK by the FCO on 22<sup>nd</sup> March 2012, and by BIS [Document: john lownds6] on 30<sup>th</sup> March 2012, following Freedom of Information requests. The email summarises a meeting organised by UK Trade and Industry (UKTI) on 25th April 2007, between the UK Foreign and Commonwealth Office (FCO), Oxitec's CEO and Head of Public Health, the Technical Director of the Brazilian Institute of Molecular Biology, the Head of Technology & Innovation at Fiocruz (the Oswaldo Cruz Foundation, under the Brazilian Ministry of Health) and the Coordinator for Biotechnology at ABDI (the Brazilian Agency for Industrial Development).

16Harris AF, McKemey AR, Nimmo D, et al. (2012) Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes. *Nature Biotechnology* **30**(9):828–830.

doi:10.1038/nbt.2350

17Subramaniam TSS, Lee HL, Ahmad NW, Murad S. (2012) Genetically modified mosquito: The Malaysian public engagement experience. *Biotechnology Journal* **7**(11):1323–1327. doi:10.1002/biot.201200282.

18 Lacroix R, McKemey AR, Raduan N, et al. (2012) Open Field Release of Genetically Engineered Sterile Male *Aedes aegypti* in Malaysia. *PLoS ONE* **7**(8):e42771. doi:10.1371/journal.pone.0042771

19Wallace HM (2013) Genetically Modified Mosquitoes: Ongoing Concerns. Third World Network. TWN Biotechnology & Biosafety Series 15. <http://twinside.org.sg/title2/biosafety/bio15.htm>

20Morrison N, Alphey L. (2012) Genetically modified insects for pest control: an update. *Outlooks on Pest Management* **23**(2):65–68.

21Genetically-modified insects: under whose control? GeneWatch UK, Testbiotech, Berne Declaration, Swiss Aid, Corporate Europe Observatory. November 2012  
[http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Regnbrief\\_fin2.pdf](http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Regnbrief_fin2.pdf)

22Extrato Prévio 3462/2013: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/17825.html>

23Ant T, Koukidou M, Rempoulakis P, et al. (2012) Control of the olive fruit fly using genetics-enhanced sterile insect technique. *BMC Biology* **10**:51. doi:10.1186/1741-7007-10-51.

24Oxitec Ltd (2013) Summary Notification Information Format (SNIF) Prepared for the release of OX3097D-Bol Olive Fly In accordance with Article 11 of Directive 2001/18/EC. <http://gmoinfo.jrc.ec.europa.eu/bsnifs-gmo/B-ES-13-07-EN.pdf>

25The Olive Oil Value Chain in Spain. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/307-the-olive-oil-value-chain-in-spain>

26MAGRAMA, 2012. Estadísticas 2011. Producción Ecológica España.  
[http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/la-agricultura-ecologica/INFORME\\_NACIONAL\\_2011\\_190912\\_tcm7-220494.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/la-agricultura-ecologica/INFORME_NACIONAL_2011_190912_tcm7-220494.pdf)

27EC (2010) LIFE among the olives: Good practice in improving environmental performance in the olive oil sector. <http://ec.europa.eu/environment/life/publications/lifepublications/lifefocus/documents/oliveoil.pdf>

28International Olive Oil Council: <http://www.internationaloliveoil.org/>

29Guidelines for the eco-production of olive oil. ECOIL Project. 2006. Pages 45-49. Available on: <http://www.ecoil.tuc.gr/report.html>

30Daane KM, Johnson MW (2010) Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times. *Annual Review of Entomology*, **55**(1):151–169. doi:10.1146/annurev.ento.54.110807.090553.

31Daane KM, Johnson MW (2010) Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times. *Annual Review of Entomology*, **55**(1):151–169. doi:10.1146/annurev.ento.54.110807.090553.

32 Vosen P, Varela L, Devarenne A (2005) Olive Fruit Fly. University of California Co-operative Extension. [http://www.ipm.ucdavis.edu/EXOTIC/olive\\_fruit\\_fly\\_info.pdf](http://www.ipm.ucdavis.edu/EXOTIC/olive_fruit_fly_info.pdf)

33Burrack HJ, Fornell AM, Connell JH, et al. (2009) Intraspecific larval competition in the olive fruit fly (Diptera: tephritidae). *Environ Entomol.* **38**(5):1400–1410.

34Rodríguez E, González B, Campos M (2009) Effects of cereal cover crops on the main insect pests in Spanish olive orchards. *J Pest Sci.*, **82**(2):179–185. doi:10.1007/s10340-008-0237-6.

35Hall B (2011) New Challenges For Pest And Disease Management In Olive Orchards And Nurseries. In: XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): Olive Trends Symposium - From the Olive Tree to Olive Oil: New Trends and Future Challenges. *ISHS Acta Horticulturae*, **924**:127–135.

36EC (2010) LIFE among the olives: Good practice in improving environmental performance in the olive oil sector. <http://ec.europa.eu/environment/life/publications/lifepublications/lifefocus/documents/oliveoil.pdf>

37Daane KM, Johnson MW (2010) Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times. *Annual Review of Entomology*, **55**(1):151–169. doi:10.1146/annurev.ento.54.110807.090553.



38Wang X-G, Johnson MW, Opp SB, Krugner R, Daane KM (2011) Honeydew and insecticide bait as competing food resources for a fruit fly and common natural enemies in the olive agroecosystem. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **139**(2):128–137. doi:10.1111/j.1570-7458.2011.01114.x.

39Guidelines for the eco-production of olive oil. ECOIL Project. 2006. Available on:  
<http://www.ecoil.tuc.gr/report.html>

40Lopes D, Pimentel R, Macedo N, et al. (2010) Olive Fly (*Bactrocera Oleae* Gmelin) Population Dynamics In Terceira Olive Groves (Portugal). In: Olive Trends Symposium - From the Olive Tree to Olive Oil: New Trends and Future Challenges. *ISHS Acta Horticulturae*, **924**:161–166.

41The Spanish “OLIFE” trap for olive fruit fly. <http://ceglenn.ucdavis.edu/files/145054.pdf>

42 Bueno A, Jones O (2002) Alternative methods for controlling the olive fly, *Bactrocera oleae*, involving semiochemicals. *IOBC WPRS Bulletin*, **25**(9):147–156

43Tsolakis H, Ragusa E, Tarantino P (2011) Control of *Bactrocera oleae* by low environmental impact methods: NPC methodology to evaluate the efficacy of lure-and-kill method and copper hydroxide treatments. *Bulletin of Insectology*. **64**(1):1–8.

44Pascual S, Cobos G, Seris E, González-Núñez M (2010) Effects of processed kaolin on pests and non-target arthropods in a Spanish olive grove. *J Pest Sci.*, **83**(2):121–133. doi:10.1007/s10340-009-0278-5.

45Nadel H, Johnson MW (2009) Controlling the olive fly in California. 2009 Sustainable Ag Expo Presentation. <http://www.vineyardteam.org/files/resources/Nadel,%20Hannah.pdf>

46Borowiec N, Groussier-Bout G, Vercken E, et al. (2012) Diversity and geographic distribution of the indigenous and exotic parasitoids of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), in Southern France. *IOBC/WPRS Bulletin*, **79**:71–78.

47Hoelmer KA, Kirk AA, Pickett CH, Daane KM, Johnson MW (2011) Prospects for improving biological control of olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), with introduced parasitoids (Hymenoptera).

*Biocontrol Science and Technology*, **21**(9):1005–1025. doi:10.1080/09583157.2011.594951.

48 Mostakim M, Abed SE, Iraqui M, et al. (2012) Biocontrol potential of a *Bacillus subtilis* strain against *Bactrocera oleae*. *Ann Microbiol.*, **62**(1):211–216. doi:10.1007/s13213-011-0248-z.

49 Sánchez-Ramos I, Fernández CE, González-Núñez M, Pascual S (2013) Laboratory tests of insect growth regulators as bait sprays for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Pest Manag Sci.* **69**(4):520–526. doi:10.1002/ps.3403.

50 Bengochea P, Christiaens O, Amor F, et al. (2013) Insect growth regulators as potential insecticides to control olive fruit fly (*Bactrocera oleae* Rossi): insect toxicity bioassays and molecular docking approach. *Pest Manag Sci.* **69**(1):27–34. doi:10.1002/ps.3350.

51 Gavriel S, Jurkevitch E, Gazit Y, Yuval B (2011) Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies. *Journal of Applied Entomology*, **135**(7):564–573. doi:10.1111/j.1439-0418.2010.01605.x.

52 Estes AM, Nestel D, Belcari A, Jessup A, Rempoulakis P, Economopoulos AP (2012) A basis for the renewal of sterile insect technique for the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi). *Journal of Applied Entomology*, **136**(1-2):1–16. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01620.x

53 <http://www.eliminatedengue.com/en/HOME.aspx>

54 Sarakatsanou A, Diamantidis AD, Papanastasiou SA, Bourtzis K, Papadopoulos NT (2011) Effects of *Wolbachia* on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, **135**(7):554–563. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01610.x.

55 Jurkevitch E (2011) Riding the Trojan horse: combating pest insects with their own symbionts. *Microb Biotechnol.*, **4**(5):620–627. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00249.x.

56 A. J. Ménez Alvarez, J. R. Esteban Duran, F.J.E. Castillo Martinez, F.J. Melero Rueda y M.. Aviles Ortega. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Lucha integrada en el olivar:

ensayos en condiciones reales y nuevas metodologías.

57Daane KM, Johnson MW (2010) Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times. *Annual Review of Entomology*, **55**(1):151–169. doi:10.1146/annurev.ento.54.110807.090553

58Benedict M, Eckerstorfer M, Franz G, Gaugitsch H, Greiter A, Heissenberger A, Knols B, Kumschick S, Nentwig W, Rabitsch W (2010) Defining Environmental Risk Assessment Criteria for Genetically Modified Insects to be placed on the EU Market. Environment Agency Austria, University of Bern, International Atomic Energy Agency. Scientific/Technical Report submitted to the European Food Safety Agency (EFSA). 10th September 2010. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/71e.pdf>

59PAT (2012) Transgenic Aedes Project Progress Report , Feb 2011-Mar 2012.

60Robinson AS, Franz G, Atkinson PW (2004) Insect transgenesis and its potential role in agriculture and human health. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **34**(2), 113–120

61Alphey N, Bonsall B, Alphey A (2011) Modeling resistance to genetic control of insects. *Journal of Theoretical Biology*, **270**, 42–55.

62Hibino Y, Iwahashi O, 1991. Appearance of wild females unreceptive to sterilized males on Okinawa Is. in the eradication program of the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillet (Diptera: Tephritidae). *Applied Entomology and Zoology*, **26**(2), 265–270.

63IAEA (undated) Sterile Insect Technology - Research and Development.

[http://www.iaea.org/About/Policy/GC/GC50/GC50InfDocuments/English/gc50inf-3-att4\\_en.pdf](http://www.iaea.org/About/Policy/GC/GC50/GC50InfDocuments/English/gc50inf-3-att4_en.pdf)

64Tsolakis H, Ragusa E, Tarantino P (2011) Control of *Bactrocera oleae* by low environmental impact methods: NPC methodology to evaluate the efficacy of lure-and-kill method and copper hydroxide treatments. *Bulletin of Insectology*. **64**(1):1–8.

65Wang S, Just DR, Andersen PP (2008) Bt-cotton and secondary pests. *International Journal of Biotechnology* 10(2/3):113

66Lu Y, Wu K, Jiang Y, et al. (2010) Mirid Bug Outbreaks in Multiple Crops Correlated with Wide-Scale Adoption of Bt Cotton in China. *Science* **328**(5982):1151–1154.

67Zhao JH, Ho P, Azadi, H (2011) Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. *Environ Monit Assess*, **173**:985–994

68MDA previne agricultores sobre aparição da lagarta *Helicoverpa* em plantações. 9<sup>th</sup> August 2013 [In Portuguese] [http://portal.mda.gov.br/portal/noticias/item?item\\_id=13900955](http://portal.mda.gov.br/portal/noticias/item?item_id=13900955)

69EC (2010) LIFE among the olives: Good practice in improving environmental performance in the olive oil sector. <http://ec.europa.eu/environment/life/publications/lifepublications/lifefocus/documents/oliveoil.pdf>

70EFSA (2013) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified animals. EFSA Journal 2013;11(5):3200 [190 pp.]. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3200.htm>

71Han HJ, Allen CC, Buchovecky CM, et al. (2012) Strain background influences neurotoxicity and behavioral abnormalities in mice expressing the tetracycline transactivator. *J Neurosci*. **32**(31):10574–10586. doi:10.1523/JNEUROSCI.0893-12.

72HSE (2011) Letter to Oxitec. 5th December 2011. Obtained by GeneWatch UK as the result of a Freedom of Information request.

73Volakakis NG, Eyre MD, Kabourakis EM (2012) Olive Fly *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae) Activity and Fruit Infestation Under Mass Trapping in an Organic Table Olive Orchard in Crete, Greece. *Journal of Sustainable Agriculture*, **36**(6):683–698. doi:10.1080/10440046.2012.672377.

74Massonnet-Bruneel B, Corre-Catelin N, Lacroix R, et al. (2013) Fitness of Transgenic Mosquito *Aedes aegypti* Males Carrying a Dominant Lethal Genetic System. *PLoS ONE* **8**(5):e62711. doi:10.1371/journal.pone.0062711

75Auerbach EA, Seyfried EE, McMahon KD (2006) Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. Water Environment Foundation. <http://www.environmental-expert.com/Files/%5C5306%5Carticles%5C8866%5C117.pdf>

76Abasi MM et al. (2009) Levels of tetracycline residues in cattle meat, liver, and kidney from a slaughterhouse in Tabriz, Iran. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **33**(4): 345-349.

77Masawat P, Mekprayoon S, Liawruangrath S, Upalee S, Youngvises N (2008) On-line preconcentration and determination of tetracycline residues in milk using solid-phase extraction in conjunction with flow injection spectrophotometry. *Maejo International Journal of Science and Technology* **2**(02), 418-430.

78Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R (2010) Multiresidue determination of antibiotics in fish samples by immunoassay. Safety control in cultivated fish. International Conference on Food Innovation. Universidad Politécnica de Valencia. 25-29 October 2010.  
<http://www.foodinnova.com/foodInnova/docu2/21.pdf>

79Jeon M, Paeng IR (2008) Quantitative detection of tetracycline residues in honey by a simple sensitive immunoassay. *Analytica Chimica Acta* **626**, 180–185.

80Agersø Y, Wulff G, Vaclavik E, Halling-Sørensen B, Jensen LB (2006) Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in soil microcosms. *Environment International* **32**, 876–882.

81Liu H, Zhang G, Liu C-Q, Li L, Xiang M (2009) The occurrence of chloramphenicol and tetracyclines in municipal sewage and the Nanming River, Guiyang City, China. *J. Environ. Monit.*, **11**, 1199–1205.

82EFSA (2013) Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified animals. EFSA Journal 2013;11(5):3200 [190 pp.]. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3200.htm>