



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ECOLOGÍA

Comparación de la diversidad genética y biológica de la comunidad de artrópodos asociada a poblaciones silvestres de *Gossypium hirsutum* con y sin presencia de proteínas recombinantes

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

FRANCISCO JAVIER PÉREZ LÓPEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Ana Laura Wegier Briuolo
Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Ek del Val de Gortari
IIES, UNAM

Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli
Instituto de Ecología, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ECOLOGÍA

Comparación de la diversidad genética y biológica de la comunidad de artrópodos asociada a poblaciones silvestres de *Gossypium hirsutum* con y sin presencia de proteínas recombinantes

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

FRANCISCO JAVIER PÉREZ LÓPEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Ana Laura Wegier Briuolo
Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Ek del Val de Gortari
IIES, UNAM

Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli
Instituto de Ecología, UNAM

MÉXICO, CD. MX.

Noviembre, 2018



Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 17 de Septiembre de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **PÉREZ LÓPEZ FRANCISCO JAVIER** con número de cuenta 308169472 con la tesis titulada "**COMPARACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA Y BIOLÓGICA DE LA COMUNIDAD DE ARTRÓPODOS ASOCIADA A POBLACIONES SILVESTRES DE *GOSSYPIUM HIRSUTUM*, CON Y SIN PRESENCIA DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES**", realizada bajo la dirección de la **DRA. ANA LAURA WEGIER BRIUOLO**:

Presidente: DR. ALEJANDRO CÓRDOBA AGUILAR
Vocal: DR. RENÉ CERRITOS FLORES
Secretario: DR. JUAN ENRIQUE FORNONI AGNELLI
Suplente: DRA. ALICIA MASTRETTA YANES
Suplente: DRA. EK DEL VAL DE GORTARI

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 17 de octubre de 2018.

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

Agradecimientos institucionales

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación y apoyo recibido.

A CONACyT por otorgarme la beca correspondiente al CVU 774558.

Agradezco el apoyo financiero y las facilidades otorgadas por la Comisión Nacional para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad y la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales Renovables de la SEMARNAT a través del convenio con el INIFAP “Programa para la conservación de las poblaciones silvestres del género *Gossypium* en México” anidado en el proyecto marco “Generación de elementos faltantes para la determinación de los centros de origen y diversidad genética”.

A mi tutora la Dra. Ana Laura Wegier Briuolo, y a los miembros de mi Comité Tutor: Dra. Ek del Val de Gortari y al Dr. Juan Enrique Fornoni Agnelli.

A los laboratorios de Biología Molecular de Zoología y Botánica del Instituto de Biología, UNAM, por las facilidades de acceso y uso de las instalaciones.

Agradecimientos a título personal

A los miembros de mi Comité: Dr. Juan Fornoni y Dra. Ek del Val, por su tiempo, comentarios y recomendaciones que potenciaron el desarrollo del proyecto.

A los miembros del jurado: Dr. René Cerritos, Dr. Alejandro Córdova, Dra. Ek del Val, Dra. Alicia Mastretta, Dr. Juan Fornoni.

A las comunidades que resguardan las poblaciones silvestres de algodón, gracias por su apoyo y confianza.

Al Dr. Johnattan Hernández Cumplido, por sus valiosos comentarios y recomendaciones que enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Ocegüera, por el apoyo y facilitación de las herramientas necesarias para el procesamiento de las muestras.

A la Dra. Maya Rocha, por la asesoría estadística para la construcción de los modelos.

A mis amigos del laboratorio y campo: Valeria V. Tania S., Brenda C., Sergio S., Santiago R., Denise A., Pamela R., Eunice A., Cristina, Melania V., y Ari U. No lo hubiera logrado sin su entusiasmo y apoyo.

A mis amigos del posgrado que hicieron mi estancia durante la maestría mucho más divertida: Gonzalo M., Cata María, Edday F., Leo C., Clau G., Lalo A., Manuel M., Zil J.

A mi familia.

Dedicatoria

A Panchito, Mari y Lau

A Ivi

Al cachorro

Índice

Resumen	5
Abstract	6
Introducción	7
Objetivo general	15
Objetivos particulares	15
Hipótesis	15
Método	16
Colecta de tejido foliar	16
Detección de transgenes en el laboratorio	16
Caracterización de los sitios de colecta por las condiciones ambientales	17
Colecta de artropofauna	17
Análisis estadísticos	20
Resultados	21
Comparación de la estructura de la comunidad de artrópodos de las parcelas sin algodón (vecindarios)	22
Comparación de la estructura de la comunidad de artrópodos entre metapoblaciones de algodón silvestre.	25
Estructura de la comunidad de artrópodos en plantas de algodón con y sin transgenes	28
Disminución de la abundancia y riqueza de artrópodos no blanco	33
Grupos funcionales	33
Discusión y conclusión	37
Comunidad de artrópodos en los vecindarios	37
Comunidad de artrópodos entre metapoblaciones de algodón silvestre	38
Estructura de la comunidad de artrópodos en plantas de algodón con y sin transgenes	39
Consideraciones finales y recomendaciones	42
Bibliografía	43

Resumen

Después de 20 años de la introducción de algodón genéticamente modificado (GM) (*Gossypium hirsutum* L.) en México, se han detectado proteínas recombinantes en cinco de las ocho metapoblaciones silvestres del país. Por esta razón es necesario determinar el posible efecto de la introgresión de plantas domesticadas con proteínas recombinantes que presentan propiedades insecticidas sobre organismos no blanco en ambientes silvestres. Los objetivos de esta investigación fueron comparar la estructura de la comunidad de artrópodos en algodón silvestre con y sin el transgen *CryI Ab / Ac* (utilizándola como marcador de introgresión), al igual que el rol funcional de los artrópodos asociados. Se realizaron muestreos en tres metapoblaciones de algodón con técnicas activas y pasivas en parcelas de 14 m² de algodón silvestre con y sin transgen, también se tomaron muestras de parcelas del mismo tamaño con plantas de la vegetación circundante en ausencia de algodón (vecindarios). Cuando la proteína recombinante estuvo presente en algodón, la riqueza y abundancia de artrópodos disminuyó. En el análisis por grupos funcionales, la riqueza, abundancia y diversidad de herbívoros y depredadores en algodón con transgenes también se redujo. Los resultados sugieren que la introgresión entre plantas GM domesticadas y sus parientes silvestres, contribuye a la modificación de la comunidad de artrópodos. Esto podría deberse a los efectos en los grupos de artrópodos de una manera diferencial, por un lado relacionado con los cambios en los recursos ofrecidos por las plantas y afectaciones en la red trófica, posiblemente causadas por las modificaciones genéticas y fenotípicas esperadas y no esperadas del proceso de domesticación y la expresión de proteínas recombinantes.

Abstract

After 20 years of the introduction of genetically modified (GM) cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in Mexico, recombinant proteins have been detected in 50% of wild populations around the country. It is necessary to determine the possible effect of introgression of domesticated plants with recombinant proteins and insecticidal properties over the non-target arthropofauna in non-agricultural environments. The aim of this investigation is to compare the arthropod community structure in wild cotton plants with and without the *CryI Ab/Ac* protein (used as a marker of introgression), like so the functional rol of the associated arthropods, like so the functional rol of the associated arthropods (). Samplings were made in three metapopulations of cotton with active and passive techniques in plots of 14 m² of wild cotton with and without recombinant protein, surrounding plots of the same size with absent cotton plants (neighbour) were also sampled. When the recombinant protein is present in cotton, richness and abundance of non-target arthropods decrease. Richness, abundance and diversity of herbivores and predatores in cotton with transgenes are reduced. Our results suggest that introgression between domesticated GM plants and their wild relatives, contributes to the modification of the community of arthropods. This could be owed to the effects in the groups of arthropods in a differential way, changes in the resources offered by the plants and affectations to the food web, possibly caused by the process of domestication and the presence of recombinant proteins.

Introducción

Los artrópodos contribuyen en el mantenimiento de los ecosistemas al participar en múltiples procesos de intercambio de materia, energía e información (Begon et al., 2009), asimismo, proveen servicios culturales y de recreación para la humanidad (Prather et al., 2013; Samways, 2007). Debido a la cantidad y variedad de funciones ecológicas que desempeñan los artrópodos, además de su tamaño pequeño, un ciclo de vida corto y alta tasa de adaptación, son candidatos idóneos para el monitoreo del estado de conservación del hábitat o sus plantas hospedadoras (Schoonhoven et al., 2005). Por ello, la evaluación de los factores que dan estructura a sus comunidades ha cobrado importancia en el contexto de la biodiversidad y conservación (Nair, 2007). Los estudios de comunidades y poblaciones de artrópodos son cada vez más frecuentes en la evaluación de riesgos durante la implementación de nuevas tecnologías biotecnológicas, debido a su capacidad de respuesta ante pequeños cambios en su ambiente.

La ingeniería genética es el conjunto de técnicas utilizadas con el fin de modificar alguna o algunas características del código genético (Zaid et al., 1999). Estos cambios pueden consistir en retirar, modificar, agregar genes o secuencias que modifiquen el DNA de un organismo. Al realizar dichos cambios la ingeniería genética consigue alterar el tipo o cantidad de proteínas producidas por un organismo, de tal modo que es posible que éste elabore sustancias nuevas o bien desempeñe funciones distintas (Stewart, 2012). Cuando los organismos han adquirido una combinación o modificación genética novedosa por técnicas de la ingeniería genética, entonces se le considera un organismo genéticamente modificado (OGM) y a cada proceso de transformación genética se le denomina evento (Peacock, 2010).

El uso de OGM en la agricultura a mediana y gran escala ha sido incentivado principalmente por el sector industrial desde 1992 a la actualidad, para el supuesto aumento en la producción de los cultivos, la reducción en la aplicación de pesticidas y fertilizantes, la resistencia a insectos plaga y al mismo tiempo asegura la inocuidad para los organismos no blanco de la tecnología (en el caso de proteínas recombinantes insecticidas). Sin embargo, desde la implementación de OGM en la agricultura han existido discusiones respecto al uso de las proteínas recombinantes, puesto que hay investigaciones que concluyen inocuidad, daños menores o marginalmente significativos a la artropofauna. Cabe resaltar que los datos

presentados por la propia industria biotecnológica, la academia y gobierno, tienen a menudo conclusiones contrapuestas. Sin embargo, hay estudios que se han enfocado explícitamente a resolver dichas controversias mediante la replicación de protocolos y experimentos, tanto de los estudios que mencionan inocuidad como los que la rechazan (Hilbeck et al., 2012).

En 2009 Schmidt et al. (2009) publicaron un estudio que detectó efectos letales en coccinélidos (*Adalia bipunctata*) a consecuencia de la ingesta de proteínas *Cry1Ab* y *Cry13Bb*. Derivado de esta publicación el cultivo de maíz Mon 810 fue prohibido en Alemania y desencadenó comentarios y estudios que cuestionaban la base científica de la prohibición. El estudio realizado por Hilbeck et al. (2012) investigó las razones subyacentes de los diferentes resultados; encontró que los estudios publicados en la revista *Transgenics Research* que reportaban inocuidad emplearon pruebas de significancia inadecuadas, lo que llevaba a obtener resultados no significativos. Además, Hilbeck et al. (2012) empleó protocolos intermedios entre ambos estudios y sus resultados corroboran efectos adversos en larvas del escarabajo *A. bipunctata*. Por otro lado, existen numerosos trabajos que han evaluado los posibles efectos de modificaciones genéticas de plantas cultivadas sobre los artrópodos no blanco (Tabla 1). En ellos se reportan efectos no esperados sobre los artrópodos NB, que van desde modificaciones en las tasas de desarrollo y mortalidad, hasta cambios en las interacciones tróficas (Tabla 1).

Un ejemplo de estas políticas es el algodón americano (*Gossypium hirsutum*), cuya principal modificación genética consiste en la incorporación del gen *Cry1 Ab/Ac* proveniente de *Bacillus thuringiensis*, el cual tiene funciones insecticidas; sin embargo, es importante mencionar que se han reportado 66 eventos de transformación a nivel mundial, de los cuales 33 tienen presencia en México. El objetivo de la inserción para expresión de la proteína recombinante *Cry1 Ab/Ac* fue el control biológico de las larvas del gusano soldado *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) y el gusano cogollero *Helicoverpa armigera* (Wu et al., 2009). Este hecho sugiere que los parientes de estas especies de insectos podrían ser más vulnerables a las modificaciones genéticas a consecuencias de su relación filogenética.

La comercialización extensiva del algodón GM tuvo su origen en Estados Unidos y Australia (Purcell et al., 2010). El 43% (15 millones de ha) de la producción mundial de

algodón tiene modificaciones a consecuencia del proceso de ingeniería genética, cuyos principales productores son India y Estados Unidos; sin embargo, otros países que han incorporado la siembra de algodón GM en su territorio son China, Paquistán, Brasil, Argentina, Colombia, Australia, Costa Rica y México. La producción con fines de comercialización de algodón GM comenzó en 1996, liberando estos cultivos en ambientes abiertos (Sanchis y Bourguet, 2008). En el mundo se han realizado 49 eventos de liberación de algodón GM en 22 países, cuyo principal objetivo fue la resistencia a plagas de insectos y hongos, la tolerancia a herbicidas, la adaptación a condiciones climáticas locales, la modificación del contenido de aceites, almidones y ácidos grasos, así como la optimización del tamaño y longitud de las fibras del algodón (CERA, 2011).

Cabe resaltar que, la mayoría de las evaluaciones de riesgo ecológico con respecto a OGM se realizan fuera del área de distribución natural de la especie blanco por lo que es necesario concentrar los esfuerzos de investigación dentro de los centros de origen y diversidad. Las evaluaciones de riesgo ecológico sobre artrópodos a consecuencia de la liberación de OGM al ambiente se han concentrado en estudios de laboratorio, en invernaderos o plantaciones experimentales donde las condiciones ambientales y ecológicas están bajo control (Meissle y Romeis, 2017; Torres y Ruberson, 2008; Zhang, Wan, Lövei, y Liu, 2006). Una de las principales preocupaciones de la liberación de los OGM en el ambiente son las consecuencias ecológicas no esperadas sobre las comunidades de organismos no blanco (ONB) entre ellas, los artrópodos (Pons et al., 2005; Sundaramurthy, 2010). El concepto de ONB puede incluir un amplio número de especies que pueden potencialmente interactuar con proteínas recombinantes al alimentarse de tejido vegetal, consumir herbívoros primarios o por vía ambiental, es decir, persistencia de proteínas recombinantes en el suelo, posterior al desprendimiento del tejido foliar (Andow y Hilbeck, 2004). Es necesario mencionar que el término de ONB es de carácter dinámico y que es dependiente del evento de transformación a evaluar.

Por otro lado, el rol funcional de los artrópodos en los ecosistemas (herbívoros, predadores, descomponedores, polinizadores) contribuyen a mantener la estabilidad de los mismos y a determinar su capacidad de resiliencia y de restauración (Nair, 2007) (Tabla 2), no obstante, a menudo en las evaluaciones de riesgo ecológico de los OGM son poco

relevantes para este tipo de estudios. Los predadores pueden regular y reprimir las poblaciones de organismos considerados plaga en los principales cultivos, al tratarse sus “enemigos naturales”. También pueden alterar las funciones ecosistémicas vía cascadas tróficas, mediante procesos ecológicos *top-down* (Price et al., 2011). Los artrópodos predadores pueden interactuar con plantas transgénicas mediante un amplio rango de rutas tróficas, puesto que a menudo son organismos omnívoros (Andow y Hilbeck, 2004). Además, tienen un papel intrínseco en el mantenimiento de la biodiversidad natural y en los agroecosistemas (Prather et al., 2013).

Con respecto al algodón *Bt*, los predadores son poco considerados en evaluaciones riesgo sobre los organismo no blanco (ONB), sin embargo, actualmente se han identificado a las arañas patas de peine (Theridiidae), larvas de dípteros de las familias Syrphidae y Dolichopodidae, *Mantis religiosa* (Mantidae), libélulas (Odonata) y grillos depredadores (como *Oecanthus* sp.) como grupos de predadores asociados algodón que deberían ser considerados para construir análisis integrales en las evaluaciones de riesgo de algodón *Bt* (de Faria et al., 2006).

Por otro lado, los herbívoros tienen un papel importante en el mantenimiento de la diversidad vegetal, intervienen en la floración y fructificación de sus plantas hospederas y fomentan la creación de nueva biomasa vegetal mediante la alimentación (Prather et al., 2013) (Tabla 2). Cuando los herbívoros se alimentan de tejido vegetal con transgenes acumulan las proteínas recombinantes en su propio tejido, como lo demostró el estudio realizado por Zhang et al., (2006) donde se detectó proteínas *Cry* en *Aphis gossypii* un herbívoro estricto de algodón. Hubo una tendencia de malformaciones adultas cuando el depredador fue alimentado con presas asociadas a plantas de algodón transgénico (Zhang 2006).

Por lo anterior, los estudios de riesgo ecológico deben considerar una interacción real entre plantas y artrópodos, ya que es indiscutible la relación ecológica-evolutiva entre ellos (Tabashnik et al., 2013). Por un lado, las plantas determinan la abundancia de las poblaciones de artrópodos residentes, así como el número y variabilidad de funciones ecológicas que desempeñan; y, por otro lado, los artrópodos representan una presión de selección para las

plantas a través de la herbivoría, polinización o mutualismo, de manera que ambas partes moldean mutuamente su historia ecológica y evolutiva (Schoonhoven et al., 2005).

El algodón americano es un complejo de especie silvestre-domesticado que se distribuye en México. De manera que en el país se encuentran organismos silvestres, cultivos de plantas domesticadas, plantas escapadas además de pocas variedades nativas (Wegier, 2013). Desde el 2011 se detectó flujo génico antiguo (detectado por microsatélites de cloroplasto) y reciente (empleando transgenes como marcador) a larga distancia entre algodón transgénico y sus parientes silvestres, asimismo se logró delimitar ocho metapoblaciones de algodón silvestre en México con base en sus características genéticas, ecológicas y geográficas (Wegier et al., 2011).

A consecuencia de este flujo antiguo y reciente dentro del complejo de *Gossypium*, desde el 2011 existe evidencia de transgenes en la mitad de las metapoblaciones silvestres de algodón. La presencia de proteínas recombinantes en plantas silvestres de algodón pudo favorecerse por la propia dinámica agrícola. Cuando se desprende la fibra de la semilla, ésta se transporta del norte al centro y sur del país para usarse como alimento de ganado. Actualmente la regulación de granos en México no considera la viabilidad de la semilla durante este proceso, por lo tanto, la dispersión accidental y posterior establecimiento de semillas en sitios fuera de la distribución natural es un fenómeno frecuente.

Tabla 1. Importancia ecosistémica de los grupos funcionales de artrópodos. Modificado de De Faria et al., (2006).

Grupo Funcional	Principales grupos de artrópodos	Importancia para los servicios ecosistémicos
Herbívoros	Acari, Homoptera, Thysanoptera, Coleoptera, Lepidoptera	Control de plagas secundarias, especies de valor carismático
Predadores	Thysanoptera, Heteroptera, Neuroptera, Coleoptera, Diptera	Control biológico natural de artrópodos plaga
Parasitoides	Diptera, Hymenoptera	Control biológico natural de artrópodos plaga
Descomponedores	Nematoda, Collembola, Isopoda	Fertilidad del suelo, movimiento de flujo de materia y energía en el ecosistema

Tabla 2. Efectos negativos no esperados de modificaciones genéticas en plantas hospederas sobre los artrópodos no blanco.

Identificación taxonómica	In situ / ex situ	Modificación genética	Parámetro evaluado	Efecto sobre los artrópodos	Referencia
Hymenoptera					
Braconidae					
<i>Cardiochiles nigriceps</i>	In situ	<i>Cry IAb</i>	Tasa de parasitismo	Supervivencia	1
	In situ	Hospedero alimentado con <i>CryIAb</i>	Tasa de parasitismo	Depredación	2
<i>Cotesia marginiventris</i>	Ex situ	Alimentación con <i>Bt-k</i>	Tasa de emergencia	Desarrollo	2
	In situ	Espray con <i>Bt-k</i>	Tasa de parasitismo	Supervivencia	4
<i>C. melanoscela</i>	In situ	Espray con <i>Bt-k</i>	Tasa de emergencia	Supervivencia	4
	Ex situ	Alimentación con <i>Bt-k</i>	Tasa de parasitismo	Desarrollo	5
<i>C. plutellae</i>	Ex situ	Alimentación con <i>Bt-k</i>	Tasa de emergencia	Desarrollo	5
	Ex situ	Hospederos alimentados con <i>CryIAC</i>	Tasa de emergencia	Depredación	7
<i>Diaeretiella rapae</i>	Ex situ	Áfidos alimentados con <i>CryIAC</i>	Tasa de parasitismo	Depredación	6 & 8
<i>Macrocentrus grandii</i>	In situ	<i>CryIAb</i> (Maíz)	Tasa de parasitismo	Desarrollo	9
<i>Microplitis croceipes</i>	In situ	Hospederos alimentados con <i>Bt-k</i>	Desarrollo	Desarrollo	10
Eulophidae					
<i>Neochrysocharis punctiventris</i>	Ex situ	Hojas tratadas con <i>Bt-k</i>	Mortalidad	Mortalidad	11
<i>Diglyphus intermedius</i>	Ex situ	Hojas tratadas con <i>Bt-k</i>	Mortalidad	Mortalidad	11
Ichneumonidae					
<i>Campoletis sonorensis</i>	In situ	Hospedero alimentado con <i>CryIAb</i>	Tasa de parasitismo	Depredación	1
<i>Campoletis sonorensis</i>	Ex situ	Hospedero alimentado con <i>CryIAb</i>	Tasa de parasitismo	Depredación	12
<i>Diadegma insulare</i>	In situ	Hojas tratadas con <i>Bt-a</i>	Tasa de parasitismo	Supervivencia	13
<i>Eriborus terebrans</i>	In situ	<i>CryIAb</i> (Maíz)	Tasa de parasitismo	Supervivencia	9
Pteromalidae					
<i>Nasonia vitripennis</i>	Ex situ	Alimentación con <i>CryIA</i>	Mortalidad	Depredación	14
	Ex situ	Alimentación con <i>Cry2A</i>	Mortalidad	Depredación	15
Diptera			1		
Tachinidae					
<i>Myiopharus doryphorae</i>	Ex situ	Hospederos alimentados con <i>Bt-t</i>	Larvaposición	Depredación	17
Coleoptera					

Identificación taxonómica	In situ / ex situ	Modificación genética	Parámetro evaluado	Efecto sobre los artrópodos	Referencia
Carabidae	In situ	Sprays de <i>Bt-k</i>	Densidad	Supervivencia	18
Carabidae	In situ	<i>Cry IAb</i> (Maíz)	Densidad	Supervivencia	19
<i>Lebia grandis</i>	In situ	<i>Cry3A</i> (papa)	Densidad	Supervivencia	20
Coccinellidae					
<i>Coleomegilla maculata</i>	In situ	Polen tratado con <i>Bt-sde</i>	Tasa de predación	Depredación	21
	Ex situ	Polen tratado con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	22
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>Cry3A</i>	Tasa de predación	Depredación	23
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>Cry3A</i>	Desarrollo	Desarrollo	23
<i>Coccinella septempunctata</i>	In situ	Hojas tratadas con <i>Bt-t</i>	Mortalidad	Mortalidad	24
<i>Hippodamia convergens</i>	Ex situ	Alimentación con <i>CryIA</i>	Mortalidad	Mortalidad	14
	Ex situ	Alimentación con <i>Cry2A</i>	Mortalidad	Mortalidad	15
	Ex situ	Áfidos alimentados con <i>Cry3A</i>	Fitness	Depredación	25
Hemiptera					
Anthocoridae					
<i>Orius majusculus</i>	Ex situ	Presas alimentadas con <i>CryIA</i>	Desarrollo y mortalidad	Depredación	22
<i>Orius insidiosus</i>	Ex situ	Polen tratado con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	23
Berytidae					
<i>Jalysus wickhami</i>	In situ	Presas alimentadas con <i>CryIAb</i>	Tasa de predación	Depredación	1
Pentatomidae					
<i>Perillus bioculatus</i>		Presas alimentadas con <i>CryIAb</i>	Tasa de predación	Depredación	27
Neuroptera					
Chrysopidae					
<i>Chrysoperla carnea</i>	Ex situ	Alimentación con <i>CryIAc</i>	Mortalidad	Mortalidad	14
	Ex situ	Alimentación con <i>Cry2A</i>	Mortalidad	Mortalidad	15
	Ex situ	Polen tratado con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	23
	Ex situ	Alimentación con <i>CryIAb</i>	Mortalidad	Mortalidad	28
	Ex situ	Alimentación con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	28
<i>Chrysoperla carnea</i>	Ex situ	Presas alimentadas con <i>CryIAb</i>	Mortalidad	Mortalidad	29
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	29
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>Cry</i>	Mortalidad	Mortalidad	30
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>Cry</i>	Desarrollo	Desarrollo	30
	Ex situ	<i>S. littoralis</i> alimentada con <i>CryIAb</i>	Mortalidad	Mortalidad	31
	Ex situ	<i>S. littoralis</i> alimentada con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	31

Identificación taxonómica	In situ / ex situ	Modificación genética	Parámetro evaluado	Efecto sobre los artrópodos	Referencia
	Ex situ	<i>T. uricae</i> alimentada con <i>CryIAb</i>	Mortalidad	Mortalidad	31
	Ex situ	<i>T. uricae</i> alimentada con <i>CryIAb</i>	Desarrollo	Desarrollo	31
	Ex situ	Presas alimentadas con <i>CryIAb</i>	Preferencia de presas	Depredación	32
	Ex situ	Áfidos alimentados con <i>CryIAb</i>	Preferencia de presas	Depredación	32
Odonata					
Libellulidae					
<i>Erthemis simplicicollis</i>	Ex situ	Hospederos alimentados con <i>Bt-i</i>	Desarrollo	Desarrollo	33
	Ex situ	Hospederos alimentados con <i>Bt-i</i>	Tasa de predación	Depredación	33
Plecoptera					
Perilidae					
<i>Acroneturia lycorias</i>	Ex situ	Hospederos muertos con <i>Bt-i</i>	Tasa de predación	Depredación	34
Megaloptera					
Corydalidae					
<i>Nigronia serriocornis</i>	Ex situ	Hospederos muertos con <i>Bt-i</i>	Tasa de predación	Depredación	34
Acari					
Phytoseiidae					
<i>Metaseiulus occidentalis</i>	Ex situ	Sprays de <i>Bt-t</i>	Mortalidad	Mortalidad	35

(Lenteren van, 1991);2- (Lenteren van, et al., 1995) 3- (Obrycki et al, 1983);4- (Fuentes-Contreras y Niemeyer, 1998); 5-(Campos et al., 1990);6-(Lewis y Takasu, 1990);7-(Farrar et al., 1994); 8- (Barbosa et al., 1986); 9-(Thorpe y Barbosa, 1986);10-(Thurston y Fox, 1972); 11-(Van Emden, 1986);12-(Herzog y Funderburk, 1985);13-(Schuster y Calderon, 1986); 14-(Stapel et al., 1997);15-(Schuster y Starks, 1975) ;17-(Lingren et al., 1978);18-(Elheneidy et al., 1988); 19-(Campbell y Duffey, 1979); 20-(Rabb y Bradley, 1968); 21-(Orr y Boethel, 1986); 22- (Else y Chaplin, 1978); 23-(Treacy et al.,1987); 24-(Farrar et al., 1992); 25-(Farrar et al., 1994); 27-(Barbour et al., 1993); 28- (Adjei-Mafo, 1980); 29- (Rice y Wilde, 1989);30-(Kaneda, 1986); 31-(Traugott y Stamp, 1997),32-(Lenteren van, 1991);33-(Bozer et al., 1996);34-(Strohmeyer et al., 1998); 35- (Paradise y Stamp, 1990).

Objetivo general

Comparar la estructura de la comunidad de artrópodos asociados plantas de algodón silvestre con y sin presencia de transgenes, en el centro de origen y diversidad genética.

Objetivos particulares

- Detectar a nivel molecular la presencia de transgenes en tejido foliar de algodón silvestre en tres metapoblaciones de algodón
- Caracterizar sitios de colecta con base en sus características ambientales
- Comparar la riqueza, abundancia, diversidad y composición de la comunidad de artrópodos de la vegetación del vecindario entre metapoblaciones de algodón silvestre.
- Comparar la estructura de la comunidad de artrópodos entre vecindarios y metapoblaciones de algodón silvestre con y sin transgenes.
- Comparar la estructura de la comunidad de artrópodos por grupos funcionales entre metapoblaciones de algodón con y sin presencia de transgenes.

Hipótesis

La hipótesis referente a la estructura de la comunidad de artrópodos es la siguiente:

H_0 = La presencia de la proteína recombinante insecticida en algodón silvestre no afecta a el ensamblaje de la comunidad de artrópodos no blanco.

H_a = La presencia de proteínas recombinantes insecticidas en algodón silvestre puede modificar el ensamblaje de la comunidad de artrópodos asociados al afectar de forma negativa a los artrópodos no blanco. Por lo tanto, la comunidad de artrópodos presentes en algodón con y sin transgenes tendrán estructura distinta.

La hipótesis que permite contrastar a los grupos funcionales es la siguiente:

H_0 = La proteína recombinante insecticida en algodón silvestre no afecta la abundancia y variedad de grupos funcionales de la comunidad de artrópodos asociada.

H_a = Si la proteína recombinante altera el número y variedad de herbívoros entonces, la abundancia y variedad de los grupos funcionales en niveles tróficos superiores se afectará al mismo tiempo. Por lo tanto, plantas de algodón con y sin transgenes, tendrán artrópodos con estructura funcional distinta.

Método

Colecta de tejido foliar

Se colectó tejido foliar de algodón silvestre a lo largo de tres metapoblaciones de México: Pacífico Sur (PS- del 20 al 23 agosto de 2017), Pacífico Centro (PC- de 24 a 27 de agosto 2017) y Península de Yucatán (PY- de 08 a 11 de septiembre de 2018) (Figura 1). El tejido se colectó de las ramas distales de cada planta, posteriormente con ayuda de pinzas de jardinero se cortaron tres hojas jóvenes completamente desarrolladas. El tejido foliar se preservó en bolsas de papel y se deshidrató con silica gel para su posterior análisis en el laboratorio.

Detección de transgenes en el laboratorio

La extracción de DNA foliar de algodón silvestre de todos los individuos colectados en las 3 metapoblaciones (n = 270) se llevó a cabo siguiendo el método CTAB (Wu et al., 2011) con la finalidad de detectar la presencia de transgenes (*Cry1* y *Cry2*). Posteriormente, el DNA se corrió en geles de agarosa al 1% mediante electroforesis, y por último se realizaron reacciones de PCR punto final con el fin de detectar o descartar la expresión de transgenes. En resumen, se detectaron muestras positivas para *Cry1* y *Cry2* en dos sitios de colecta en la península de Yucatán (Tabla 2). En la metapoblación Pacífico Sur se detectó la permanencia de transgenes (*Cry1* y *Cry2*) desde su primer registro en 2011. Mientras que en Pacífico Centro no se encontró evidencia de presencia de transgenes. De tal forma que se identificó una metapoblación silvestre con transgenes (YP), una sin transgenes (CP) y otra que dentro de la misma metapoblación se detectaron sitios con y sin transgenes (SP) (Figura 1 y Tabla 3).

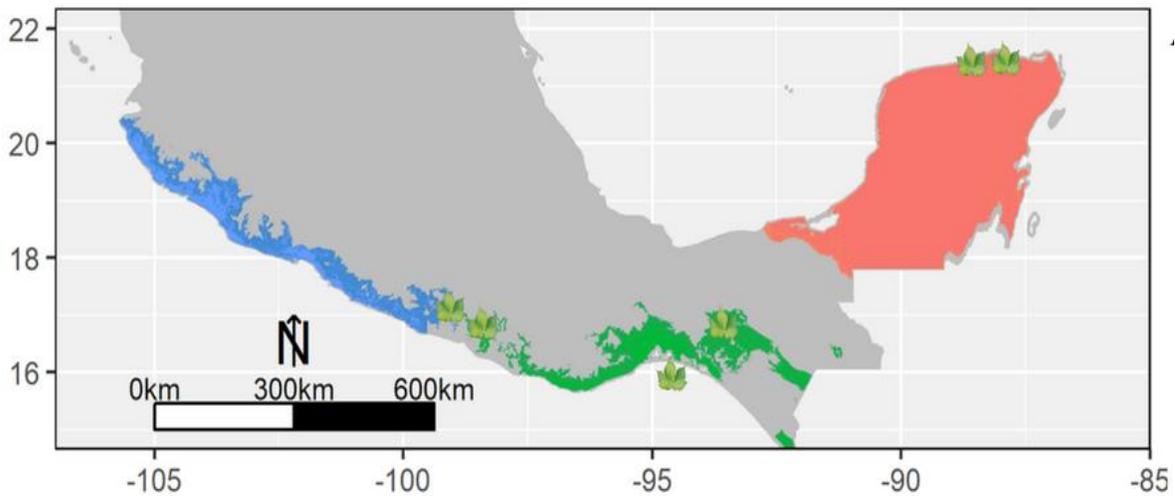


Figura 1. Metapoblaciones de algodón silvestres en México. Pacífico Centro (azul), Península de Yucatán (rojo) y Pacífico Sur (SP-verde). Las hojas de algodón representan los sitios de muestro de artrópodos con base en los resultados de PCR punto final para la detección de transgenes (Tabla 3).

Tabla 3. Sitios de muestreo por metapoblación y resultado de PCR punto final

Metapoblación	Categoría	Sitio de muestreo	Presencia de transgen (PCR)
YP	Introgresión	A	Positivo
	Introgresión	B	Positivo
SP	Introgresión	A	Positivo
	Silvestre	B	Negativo
CP	Silvestre	A	Negativo
	Silvestre	B	Negativo

Caracterización de los sitios de colecta por las condiciones ambientales

Para comparar las características ambientales de cada sitio de colecta, éstos fueron caracterizados usando las 19 capas de World Clim mediante el programa MaxEnt con 500 repeticiones. Se encontró que las variables con mayor contribución en todos los sitios de colecta fueron: 1) la precipitación del trimestre más húmedo; 2) la temperatura estacional; 3) la temperatura mínima del mes más frío; 4) la temperatura media del trimestre más caliente; y 5) la precipitación del trimestre más seco.

Colecta de artropofauna

En función de la presencia o ausencia de transgenes (Tabla 3) se definieron dos sitios de colecta dentro de cada metapoblación (SP, CP y YP). En cada sitio se delimitaron tres

parcelas de 14 m², dos con plantas de algodón silvestre (A y B) y una con vegetación del vecindario circundante (C; vegetación de la región sin algodón).

Para estandarizar la colecta de artrópodos en todas las metapoblaciones se muestreo 30 días después de comenzar la temporada de lluvia en cada sitio, debido a que el pico de la diversidad de artrópodos en selvas bajas caducifolias se alcanza un mes del inicio de la temporada de lluvia. Con el fin de incluir en la colecta la mayor cantidad y variedad de artrópodos se realizaron muestreos mediante técnicas activas (red de golpeo, red para mariposas y colecta manual con pinzas entomológicas) y pasivas (trampas Van-Rydon, *pitfall* y jabonosas) (Tabla 4). Los muestreos activos se realizaron dos veces al día (11 y 15 h) por 30 minutos efectivos durante dos días consecutivos, mientras que, para las colectas pasivas se colocaron ocho trampas *pitfall* distribuidas en dos transectos y tres trampas jabonosas en la mitad de esta por parcela. Todas las trampas guardaron máximo 40 cm distancia a las plantas de algodón. Las trampas se colocaron a las 11 am y se levantaron 48 h después (Figura 2).

Los lepidópteros colectados se preservaron en sobres de papel *glassine* mientras que el resto de los ejemplares se preservaron en alcohol al 70% para su posterior análisis en el laboratorio. Dadas las altas temperaturas de los sitios de colecta, las muestras se mantuvieron en hielo para evitar la degradación del DNA y preservar los caracteres preponderantes para la identificación. Finalmente, los individuos capturados fueron identificados al nivel taxonómico más fino posible siguiendo la clasificación de Borror et al., (2006). Luego se les asignó una morfoespecie y un grupo funcional (herbívoros, predadores, polinívoros y parasitoides) con base en la literatura.

Tabla 4. Técnicas de colecta de artrópodos empleadas en cada parcela.

Técnicas activas	Red de golpeo	Se utiliza principalmente para capturar organismos grandes y de vuelo rápido asociados a la vegetación (Evans <i>et al.</i> 1983). Se emplearon redes de tul con diámetro de 35 cm para colectar los artrópodos asociados al follaje.
	Red para mariposas	Técnica dirigida principalmente a mariposas diurnas. Se colectaron todos los ejemplares que se posaron sobre el follaje, flores, frutos o en vuelo dentro de las parcelas de muestreo.
	Colecta manual	Técnica dirigida a los artrópodos de un estadio del ciclo de vida particular (huevos, pupas o larvas) asociados a estructuras específicas (<i>e.g.</i> tallos, hojas, flores y frutos). La colecta se realiza con pinzas de relojero y pinceles.
Técnicas pasivas	Van Someren – Rydon	Técnica dirigida principalmente a mariposas polinizadoras y frugívoras atraídas por un cebo (mezcla fermentada de plátano macho, piña y cerveza) (Shuey, 1997).
	Pitfall	Recipientes sin tapa enterrados a nivel del suelo que contienen alcohol al 70% a un tercio de su capacidad, se empleó atún y miel como atrayentes. Esta técnica se basa en interrumpir la locomoción de los organismos deambulatorios que al caer dentro de la trampa no pueden escapar (Brown y Matthews, 2016).
	Jabonosas	Recipientes de colores (<i>i.e.</i> amarillo, blanco y azul) cuyo contenido es una solución de agua y jabón líquido sin olor ni color (75/25). Técnica que se fundamenta en la respuesta al color de artrópodos polinizadores o visitantes florales (Heneberg y Bogusch, 2014). Cuando los insectos se posan sobre los recipientes de colores, la solución acuosa rompe la tensión superficial provocando el hundimiento de estos.

Análisis estadísticos

Para comparar la riqueza, abundancia y diversidad de artrópodos se realizaron modelos bayesianos de efectos mixtos lineales generalizados (Dorie, 2014). De obtener resultados significativos se realizó la prueba *post hoc* de Tukey. La diversidad de artrópodos se estimó mediante los números de Hills o diversidad verdadera (Chao et al., 2014) y para compararla gráficamente se construyó una curva de Renyi (Tóthmérész, 1995) entre poblaciones silvestres, introgresadas y silvestres introgresadas. Este método considera un conjunto de índices de diversidad que le dan un peso diferencial a la riqueza y abundancia de las especies (i.e. riqueza específica, Shannon-Wiener, Simpson) (Southwood y Henderson, 2000). Además, se realizó un análisis de coordenadas principales (PCoA) para comparar la composición de la comunidad de artrópodos. Posteriormente, con la función de Adonis se determinó si al menos uno de los grupos formados por el PCoA era distinto significativamente a los demás. Se realizaron los mismos análisis para comprar la riqueza, abundancia, diversidad y composición de los grupos funcionales de los artrópodos asociados a poblaciones silvestres (CP), introgresadas (llamamos a las que tienen presencia del transgenes -YP-) y W-I (áreas con y sin transgenes). Todos los análisis se realizaron con los paquetes *ade4* (Dray y Dufour, 2007), *vegan* (Oksanen et al., 2018), *multcomp* (Hothorn et al., 2017) y *lme4* (Douglas et al., 2017) en el software de R versión 3.4.3 (R Core Team, 2017).

Es importante mencionar que con los métodos anteriormente descritos se comparó la estructura de la comunidad de artrópodos de la vegetación de vecindario (plantas circundantes a algodón) en las metapoblaciones SP, YP y CP. Con el fin de determinar diferencias en riqueza, abundancia diversidad o composición de los artrópodos del vecindario en cada metapoblación, *a priori* a los objetivos del estudio. Al no obtener diferencias significativas asumimos que el nicho de los artrópodos de algodón es estable a pesar de la distancia geográfica entre las metapoblaciones, y, por lo tanto, la comparación de las parcelas con algodón silvestre es estadísticamente viable.

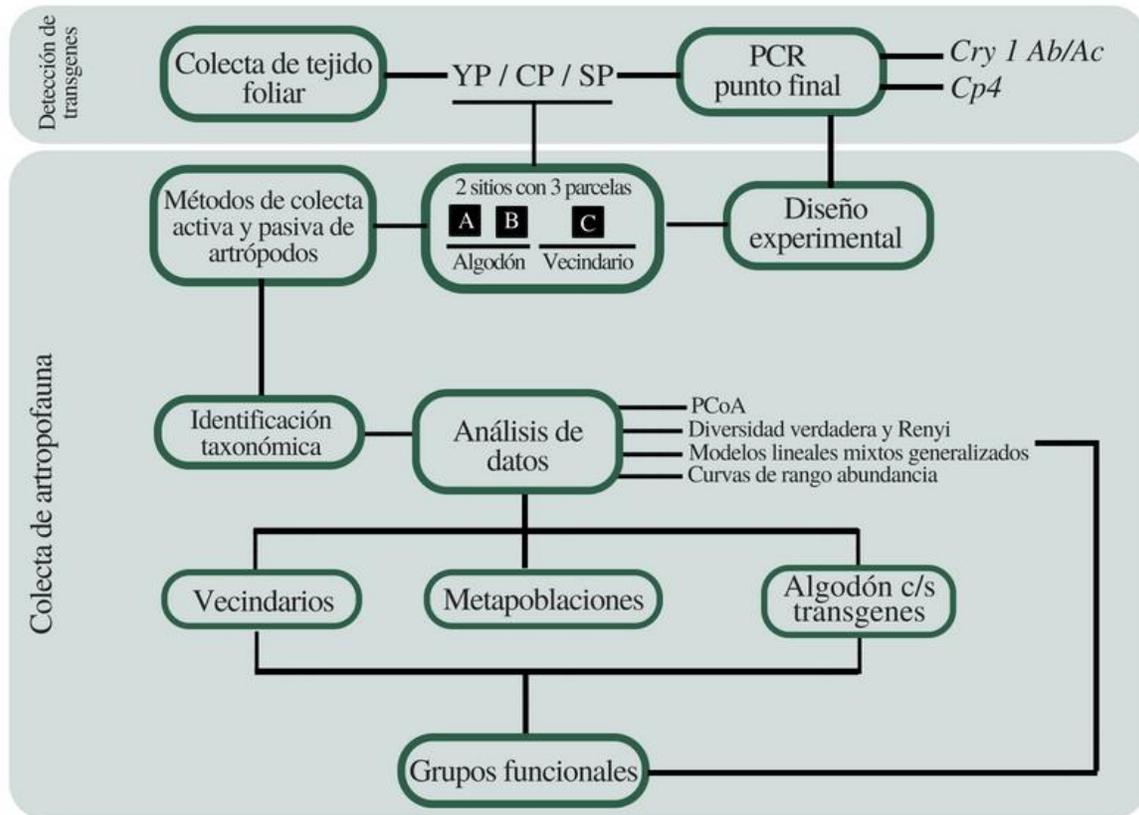


Figura 2). A) Diseño experimental para la colecta de tejido foliar y de artrópodos por metapoblación. Se muestra el flujo de trabajo, así como métodos para el análisis de datos

Resultados

Se colectaron 21,495 ejemplares de artrópodos de los cuales 9,959 se registraron en CP, 2044 en YP y 8592 en SP. Se reconocieron 766 morfoespecies de artrópodos, clasificadas en 141 familias, 30 órdenes y tres *phyla* de invertebrados. Los grupos funcionales más abundantes fueron los herbívoros, seguido de los predadores y los registrados con menor abundancia fueron parasitoides y polinívoros, con base en la clasificación de Borror et al., 2006.

Entre metapoblaciones se compartieron 171 morfoespecies de artrópodos. Cabe señalar que al comparar la metapoblación silvestre y W-I, observamos que se comparten casi 3 veces más especies con respecto a la metapoblación con introgresión (Figura 3).

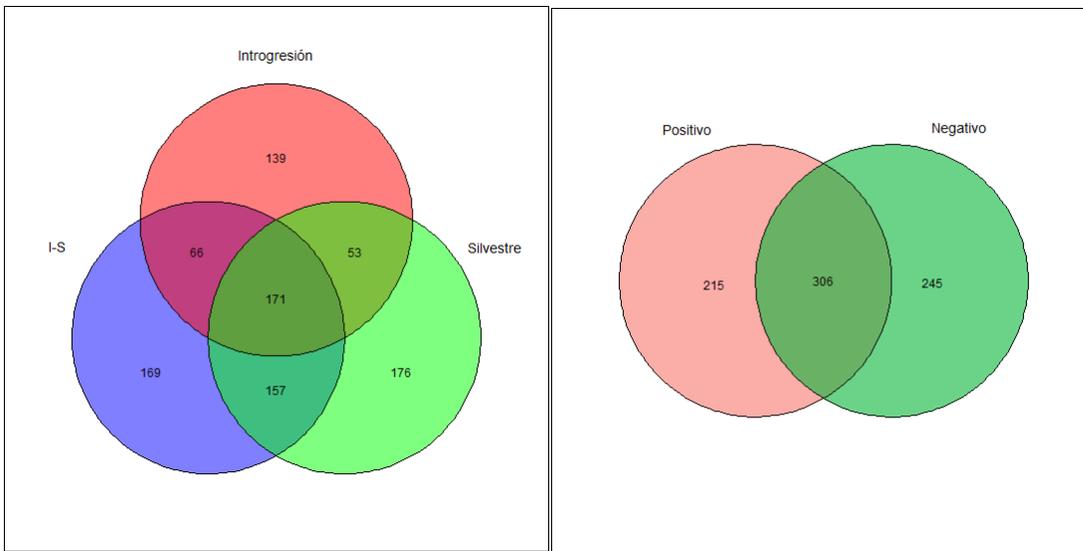


Figura 3. Diagrama de Venn que muestran las morfoespecies compartidas entre (A) metapoblaciones y (B) plantas de algodón con y sin transgen.

Comparación de la estructura de la comunidad de artrópodos de las parcelas sin algodón (vecindarios)

En primer lugar, se comparó la comunidad de artrópodos presente en la vegetación del vecindario entre metapoblaciones; se encontró que la riqueza (Figura 4), abundancia (Figura 5) y diversidad de artrópodos (Figura 6 y 7) son estadísticamente similares entre sí. Sin embargo, la composición de la comunidad de artrópodos tuvo diferencias marginalmente significativas entre metapoblaciones ($p = 0.058$) (Figura 8).

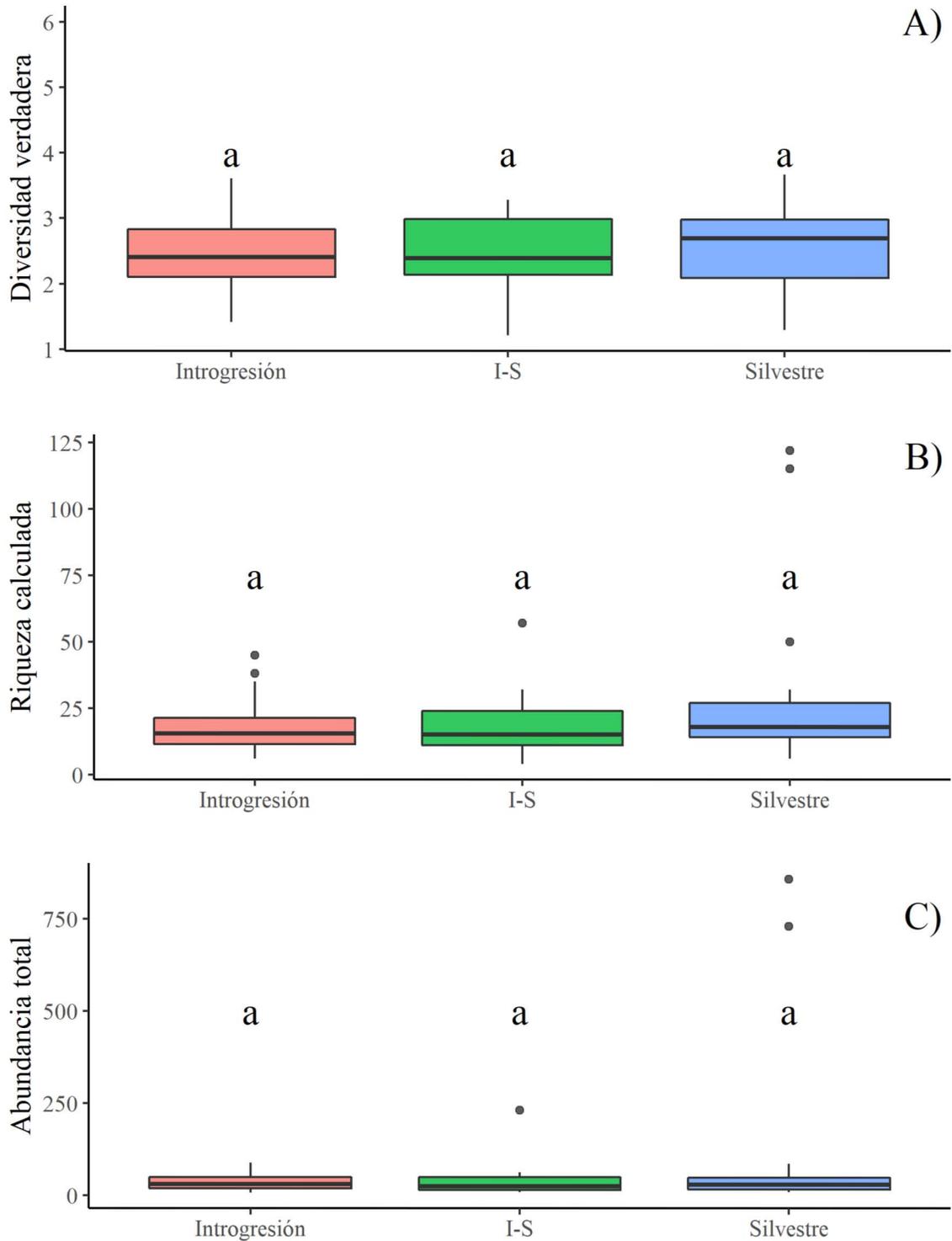


Figura 4. Diversidad verdadera (A), riqueza calculada (B) y abundancia total (C) de los vecindarios entre metapoblaciones silvestres, introgresadas y con poblaciones introgresadas y silvestres (I-S). Letras diferentes denotan diferencias significativas con base en la prueba post hoc de Tukey $p < 0.05$.

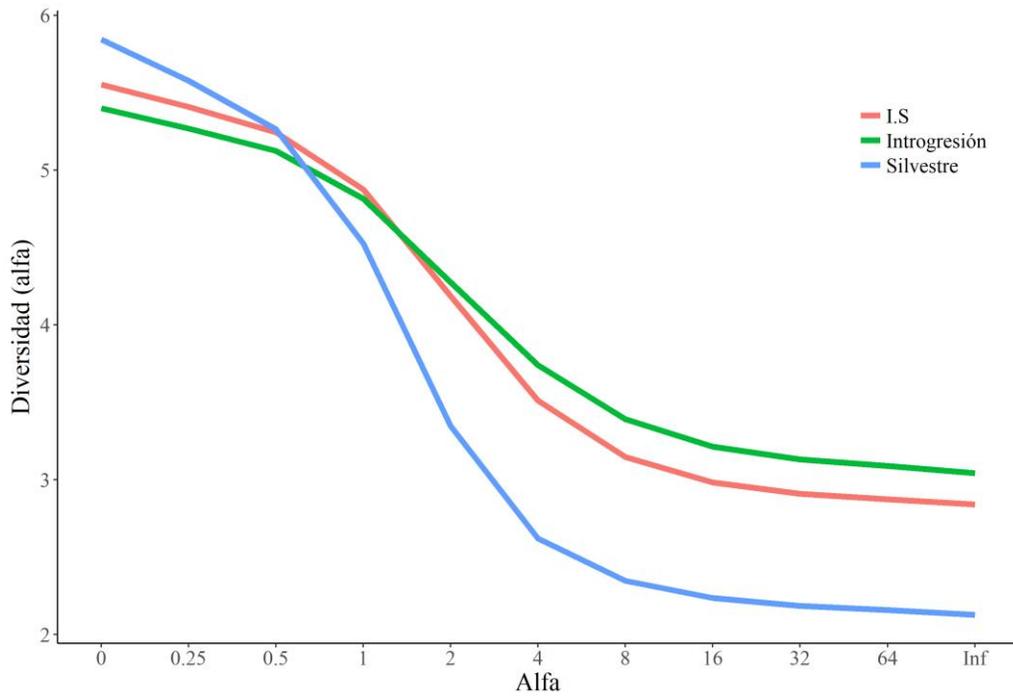


Figura 5. Curva de diversidad de Renyi de la comunidad de artrópodos del entre metapoblaciones.

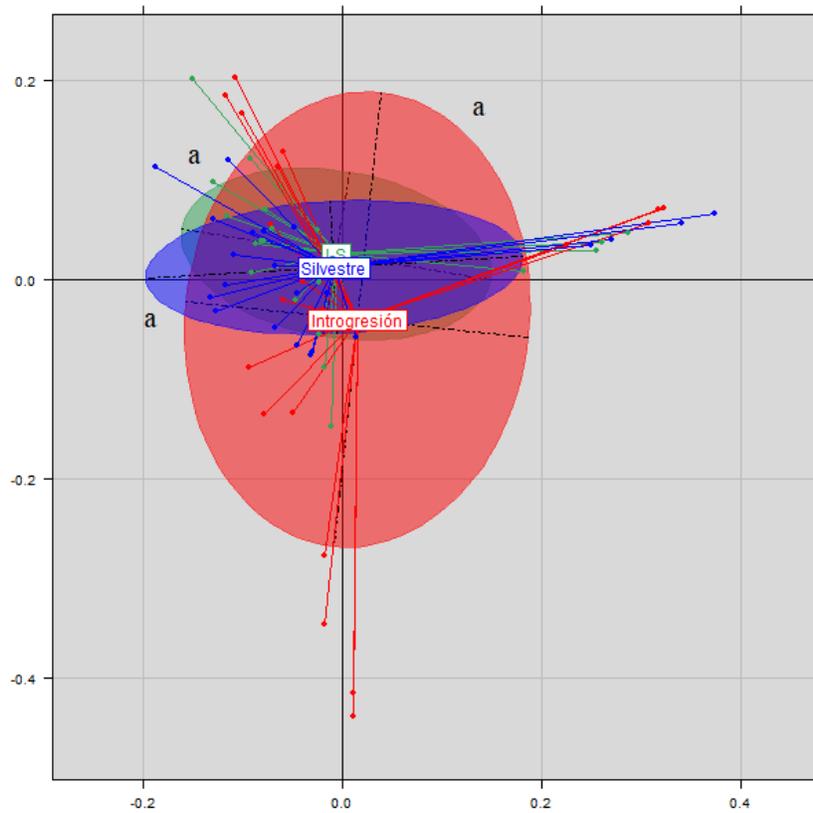


Figura 6. Composición de la comunidad de artrópodos del vecindario entre metapoblaciones. La prueba de adonis no detecta diferencias significativas entre metapoblaciones ($p = 0.058$).

Comparación de la estructura de la comunidad de artrópodos entre metapoblaciones de algodón silvestre.

Se registró mayor riqueza (Figura 9 y Tabla 4) y abundancia (Figura 10 y Tabla 4) de artrópodos en la población de algodón silvestre libre de transgenes con respecto a la población con evidencias de introgresión. La diversidad de artrópodos no fue distinta entre metapoblaciones (Figura 11-12 y Tabla 4).

Por otro lado, la composición de artrópodos asociados a plantas de algodón wild, introgresadas y W-I fue significativamente diferente (Figura 13 y Tabla 5). No se detectó influencia del sitio de colecta en la composición de artrópodos (Figura 13 y Tabla 5). Las curvas de rango abundancia se muestran que solo una especie representa 95% de la abundancia de la comunidad de artrópodos con transgenes (Figura 14a). Mientras que la artropofauna asociada a algodón silvestre es más equitativa debido a que son cuatro especies las que representan el 50% de la abundancia total (Figura 14c).

Tabla 5. Resultados de *bgfmer* para comprar la diversidad, riqueza y abundancia de artrópodos entre Metapoblaciones y área de colecta.

Parámetro	Categoría	df	Mean square	<i>F</i>	<i>P</i>
Diversidad	Metapoblación	2,52	1018.9	0.41	0.84
	Sitio	5,52	2120.61	0.57	0.63
Riqueza	Metapoblación	2,52	68.09	34.05	0.001
	Sitio	5,52	1440.8	0.71	0.54
Abundancia	Metapoblación	2,52	2199.5	1099.73	0.001
	Sitio	5,52	371152	0.57	0.63

Tabla 6. Resultados de la prueba de *adonis* para comparar los grupos formados por el PCoA.

Factor	df	Chi-Square	<i>F</i>	<i>P</i>
Metapoblación	2, 52	1.12	1.20	0.0017
Sitio de colecta	2, 52	0.92	0.99	0.4832
Hospedero	1, 52	0.72	1.55	0.0003

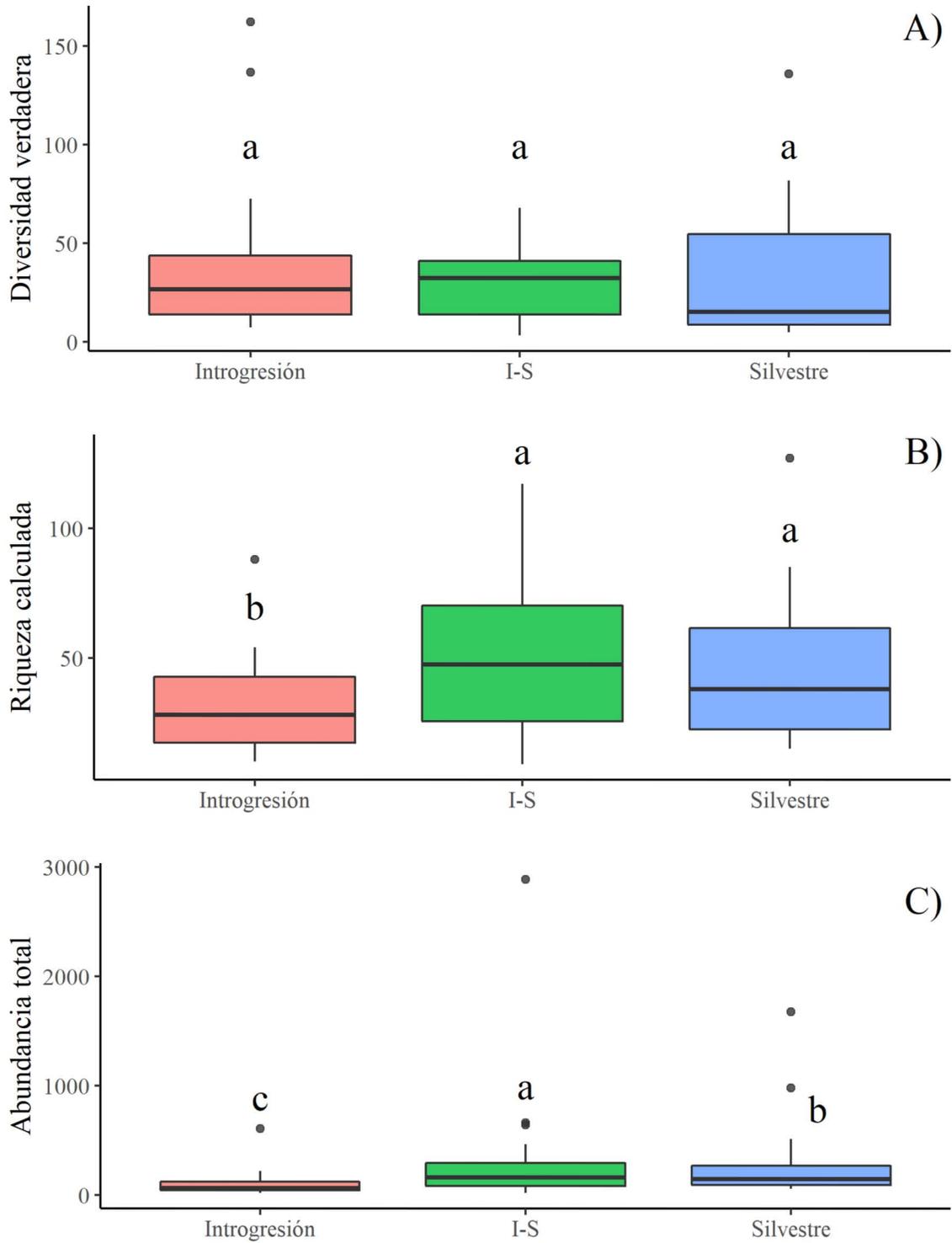


Figura 7. Diversidad verdadera (A), riqueza calculada (B) y abundancia total (C) de metapoblaciones silvestres, introgresadas y con poblaciones introgresadas y silvestres (I-S). Letras diferentes denotan diferencias significativas con base en la prueba post hoc de Tukey $p < 0.005$.

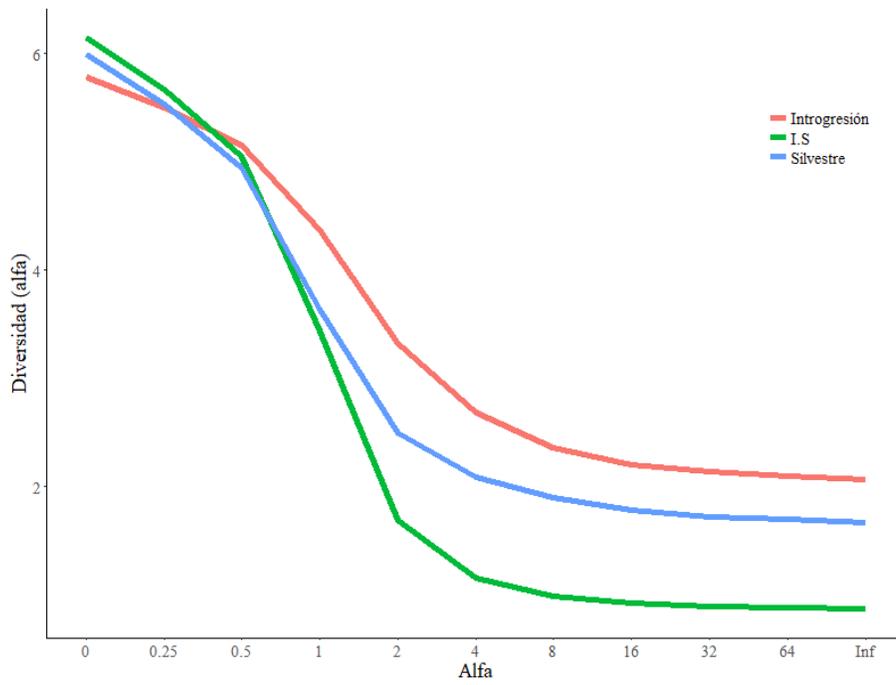


Figura 8. Curva de Diversidad de Renyi de la comunidad de artrópodos entre metapoblaciones.

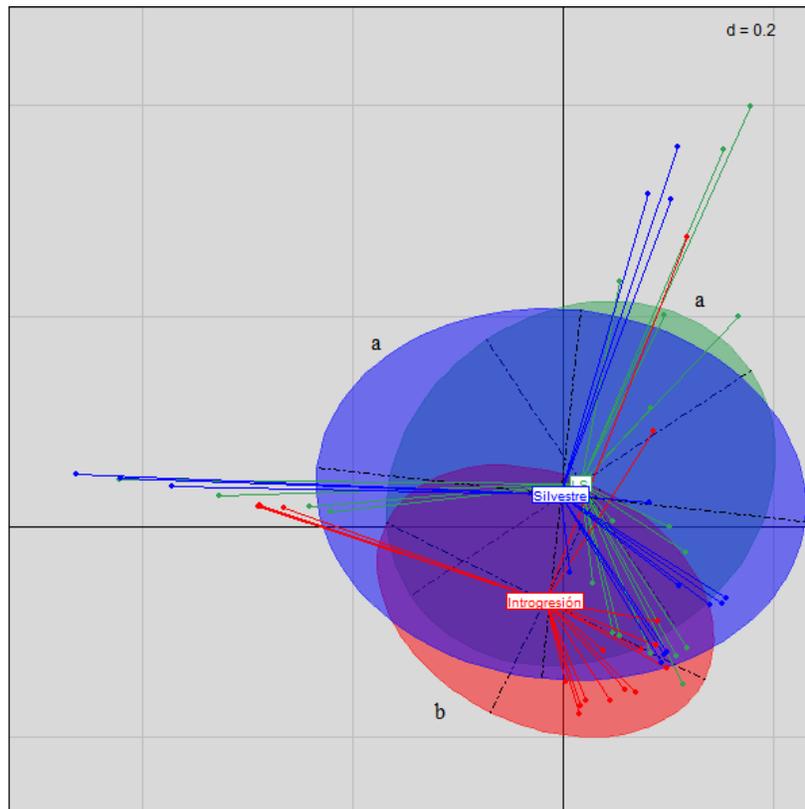


Figura 9. PCoA que muestra la composición de la comunidad de artrópodos entre metapoblaciones de algodón. Letras diferentes denotan diferencias significativas, $p < 0.005$, con base en la prueba de Adonis.

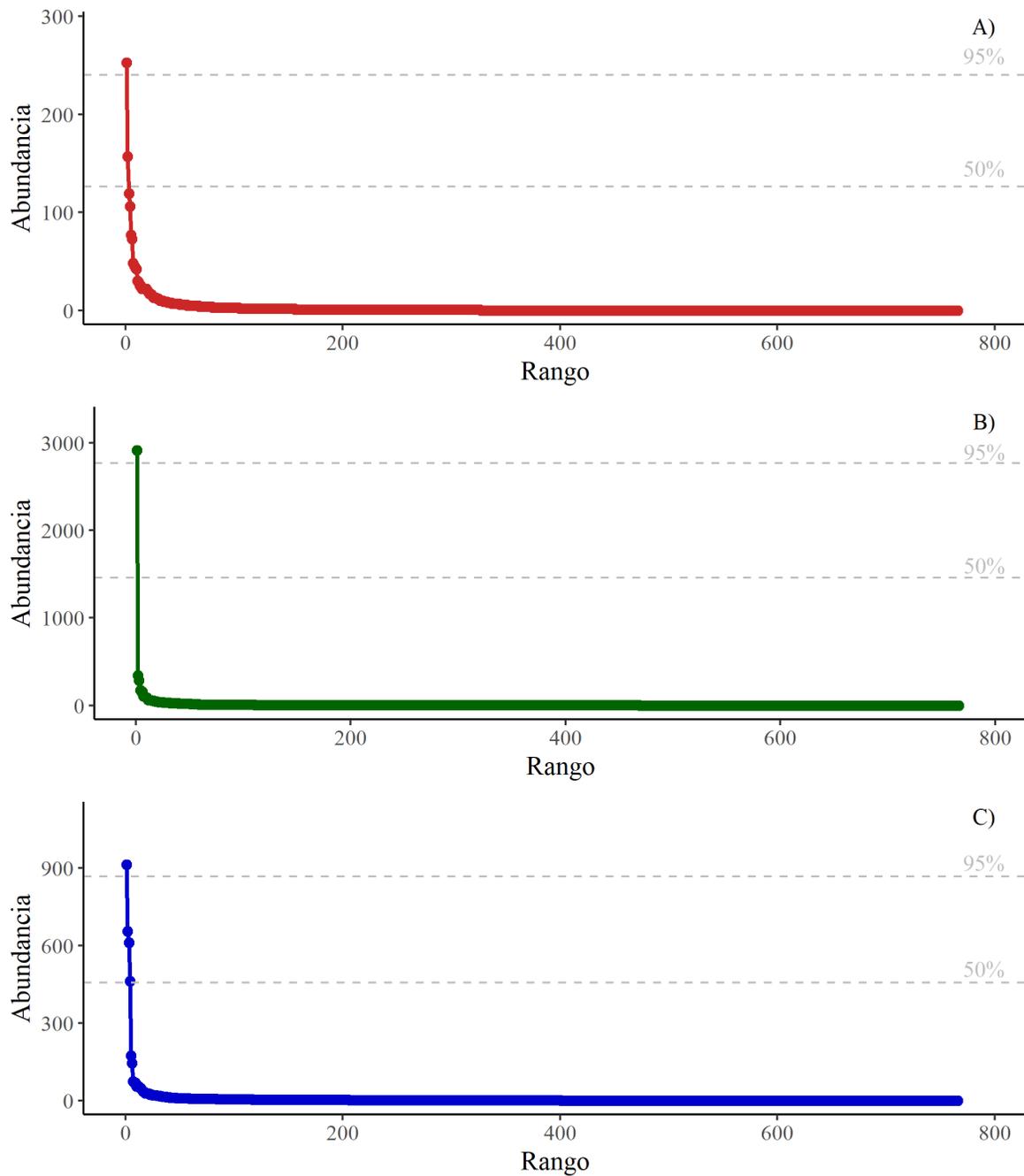


Figura 10. Curvas de rango-abundancia de artrópodos residentes en metapoblaciones: introgresadas (A), silvestres-introgresadas (B) y silvestres (C). En cada gráfica se muestran líneas punteadas que representan 50 y 95% de la abundancia total de artrópodos.

Estructura de la comunidad de artrópodos en plantas de algodón con y sin transgenes

Debido a que no se encontró efecto del sitio sobre la riqueza, abundancia, diversidad y composición de artrópodos (Tabla 4), se compararon los mismos parámetros entre plantas de algodón con y sin transgenes.

Los sitios con presencia de proteínas recombinantes presentaron menor riqueza ($F = 32.58$, g.l. = 1, 52, $P < 0.005$) y abundancia de artrópodos ($F = 145.61$, g.l. = 1, 52, $P < 0.005$) (Figura 15a y Figura 15b). Además, la composición de artrópodos fue distinta con respecto a algodón sin transgenes (Figura 16). La curva de diversidad de Renyi muestra mayor diversidad de artrópodos en sitios libres de transgenes en todos los parámetros del análisis (Figura 15d), sin embargo, el bglmer no encuentra diferencias significativas entre plantas con y sin transgenes ($F = 0.031$, g.l. = 1, 52, $P > 0.005$; Figura 15c).

En las curvas de rango abundancia se muestra un mayor número de especies con abundancia relativa similar en la comunidad de artrópodos sin transgenes lo cual es una medida de equidad dentro de la comunidad (Figura 17a). En contraste, únicamente una especie ocupó el 95% de la abundancia de artrópodos asociada a algodón con transgenes (Figura 17b).

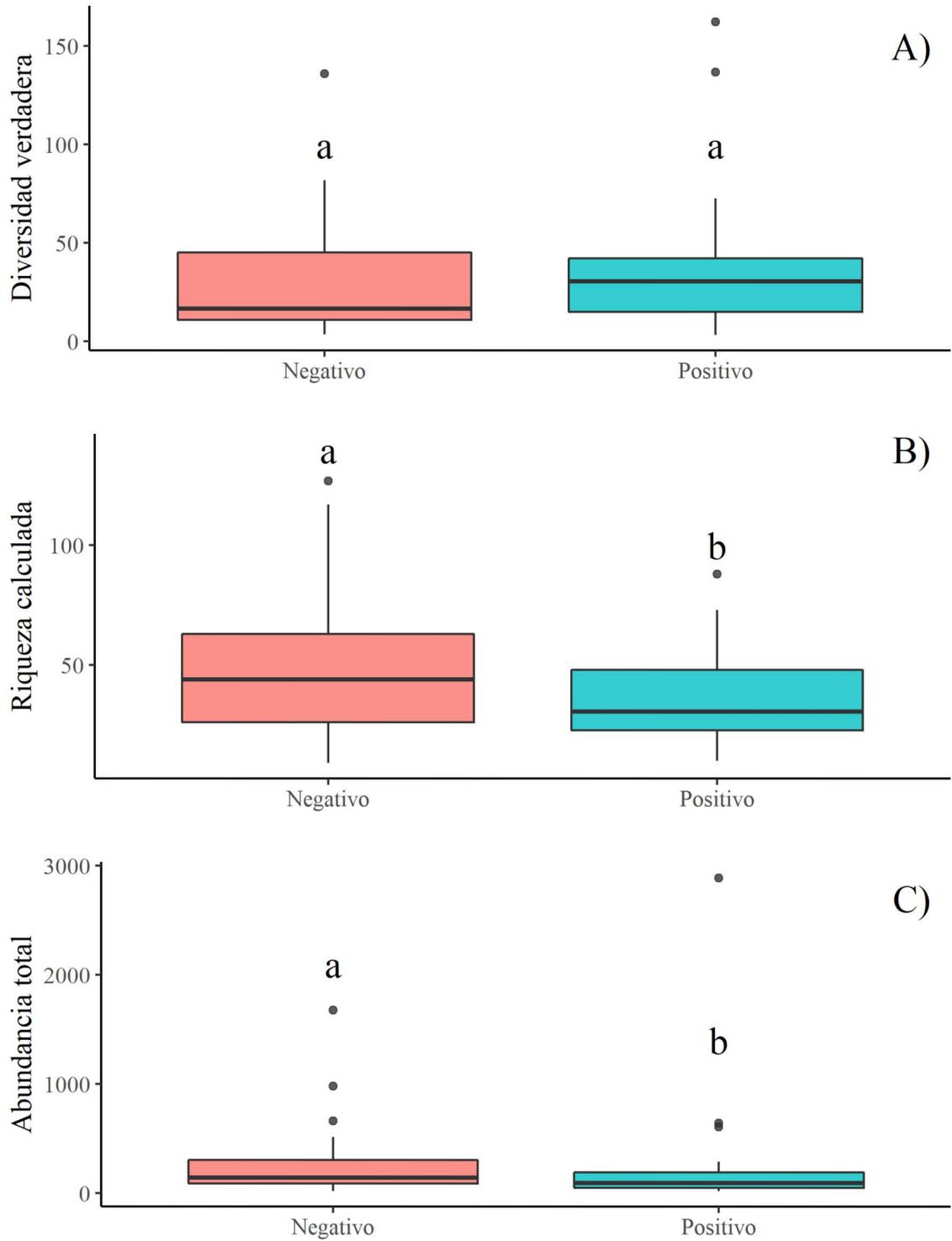


Figura 11. Diversidad verdadera (A), riqueza calculada (B) y abundancia total (C) de plantas con resultados positivos y negativos para la presencia de transgenes. Letras diferentes denotan diferencias significativas con base en la prueba post hoc de Tukey $p < 0.005$.

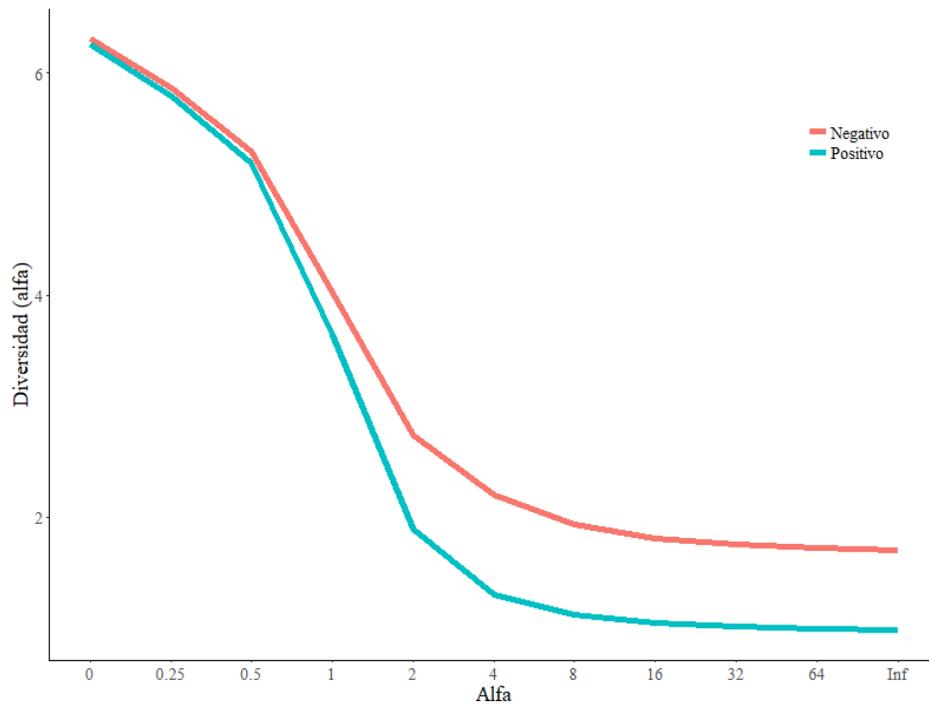


Figura 12. Curva de Diversidad de Renyi de la comunidad de artrópodos en plantas con resultados positivos y negativos para la presencia de transgenes.

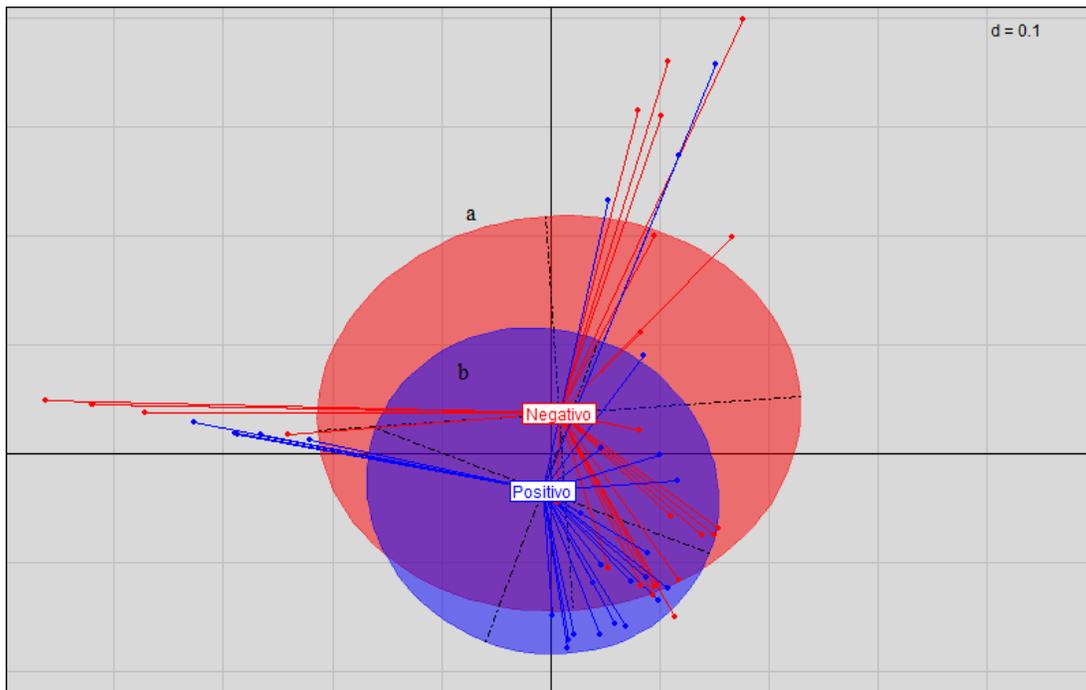


Figura 13. PCoA que muestra la composición de la comunidad de artrópodos en algodón con y sin transgenes. Letras diferentes denotan diferencias significativas, $p < 0.005$, con base en la función de Adonis.

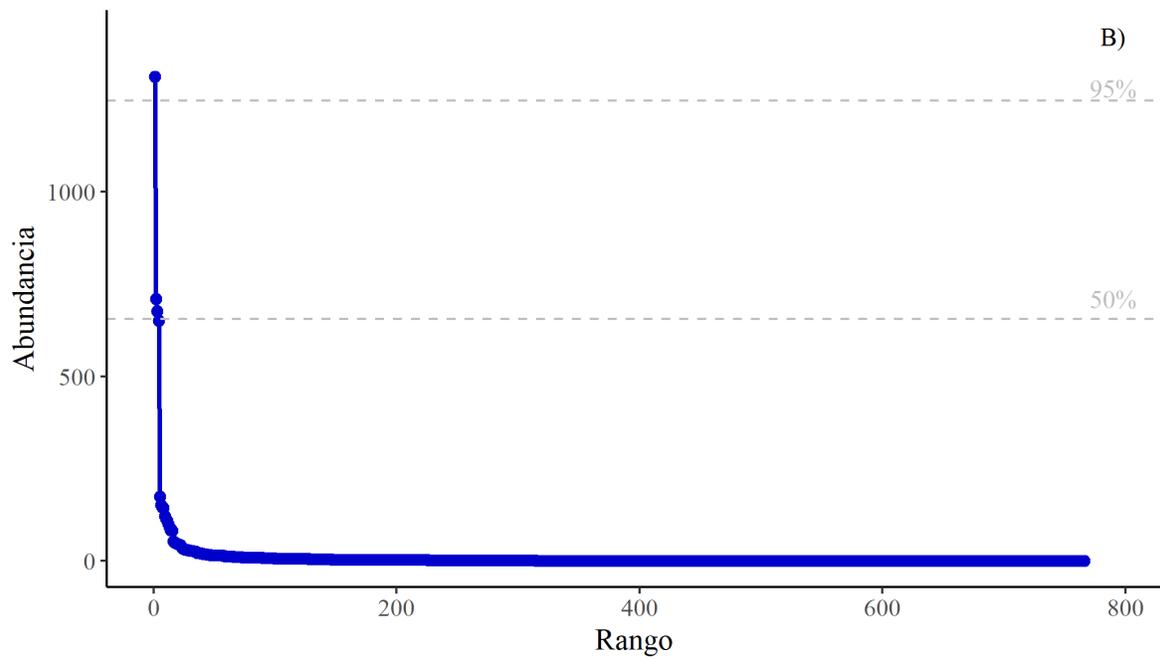
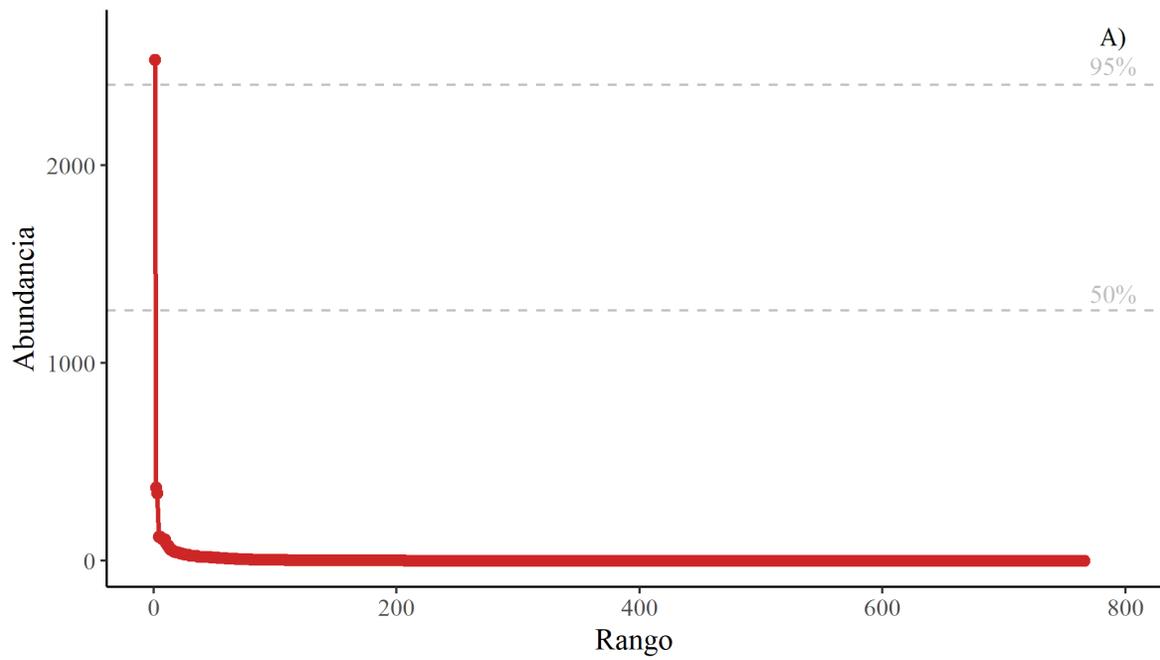


Figura 14. Curvas de rango abundancia de artrópodos residentes en a) plantas silvestres y b) silvestres con transgenes. En cada gráfica se muestran líneas punteadas que representan el 50 y 95% de la abundancia total de artrópodos.

Disminución de la abundancia y riqueza de artrópodos no blanco

Al comparar los órdenes de artrópodos más abundantes asociados a plantas de algodón silvestre con y sin transgenes, en algunos grupos presentes en algodón con introgresión se redujo la abundancia de sus poblaciones y el número de morfoespecies (Tabla 6).

Tabla 7. Comparación porcentual de la riqueza y abundancia de artrópodos en algodón con transgenes con respecto al silvestre. Se representa con (-) cuando los valores decrecen y con (+) cuando los valores aumentan.

Orden	Riqueza (%)	Abundancia (%)
Coleoptera	-50.00	-67.72
Lepidoptera	-14.00	+9.69
Diptera	+15.38	+81.55
Hymenoptera	+50.00	-70.10
Hemiptera	-47.14	-84.28
Araneae	-21.42	-46.71

En algodón con transgenes se encontró 14% menos riqueza de morfoespecies de lepidópteros con respecto a algodón sin transgenes. Además, la familia con mayor contribución a la comunidad en plantas de algodón silvestres (Pieridae), no se registró en las parcelas de algodón con transgenes. La familia Pieridae se reportada como grupo hermano adyacente a las principales plagas de algodón (Mitter et al., 2010). Por otro lado, prácticamente todas las morfoespecies de curculionidos se registraron en plantas sin transgenes y sólo el 0.01% de la abundancia de estos organismos se registró plantas de algodón con transgenes.

Grupos funcionales

Se encontró menor riqueza y abundancia de artrópodos herbívoros y predadores en plantas con introgresión con respecto a plantas silvestres y W-I (Figura 19). La diversidad más baja de herbívoros y predadores se presentó en plantas con transgenes (Figura 19c y 19f). Además, su composición fue distinta entre algodón wild, W-I y con evidencias de introgresión (Tabla 7 y Figura 18). En cuanto a los artrópodos polinívoros residentes en plantas wild, W-I e introgresadas, no se encontraron diferencias significativas en la riqueza, abundancia y diversidad. Sin embargo, la composición presentó diferencias marginales entre plantas

silvestres, W-I e introgresadas. Por último, el sitio presentó efecto marginal sobre la composición de la comunidad de parasitoides (tabla 7).

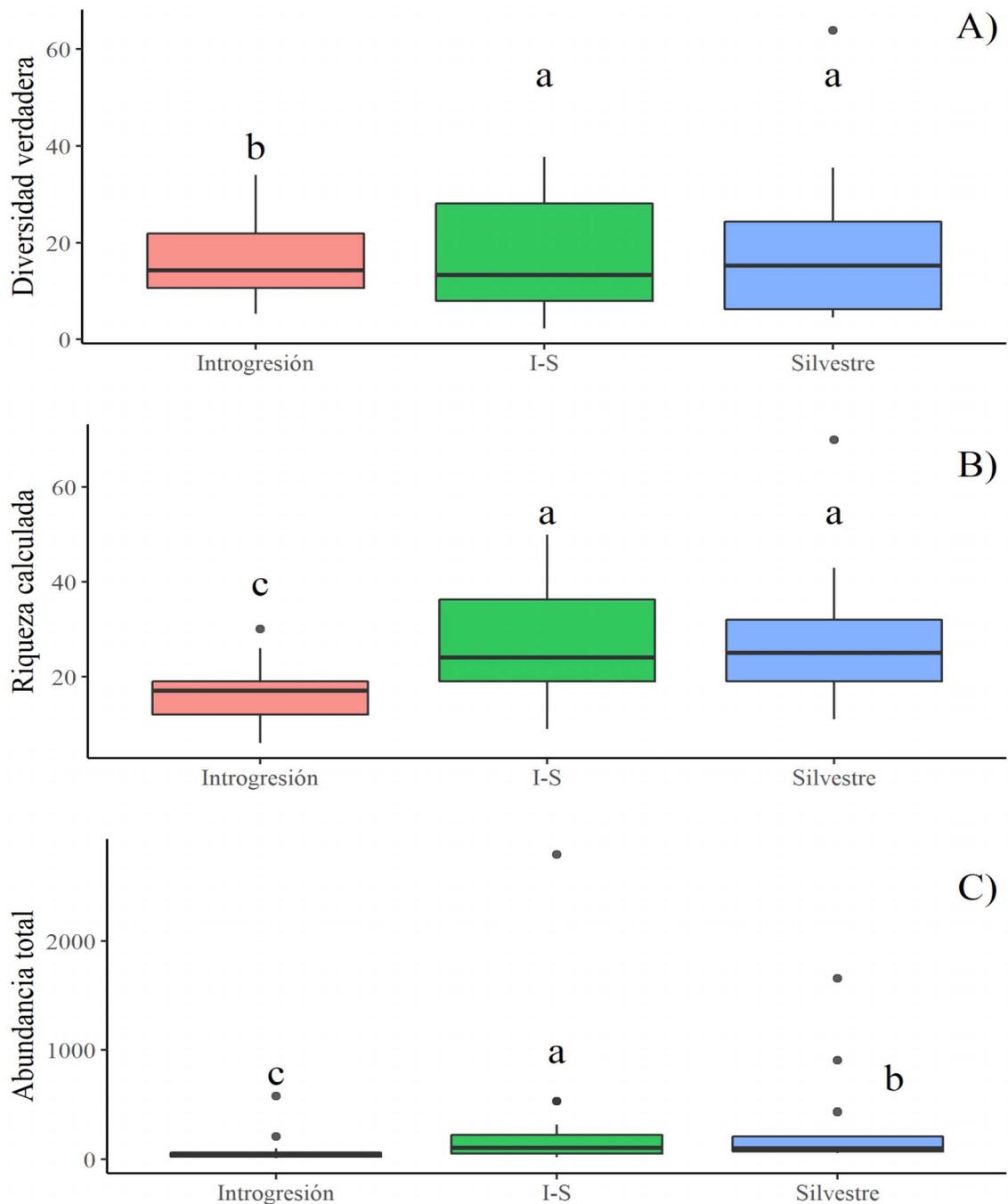


Figura 15. Diversidad verdadera (A), riqueza calculada (B) y abundancia total (C) de herbívoros presentes en metapoblaciones silvestres, introgresadas y con poblaciones introgresadas y silvestres (I-S). Letras diferentes denotan diferencias significativas con base en la prueba post hoc de Tukey $p < 0.005$.

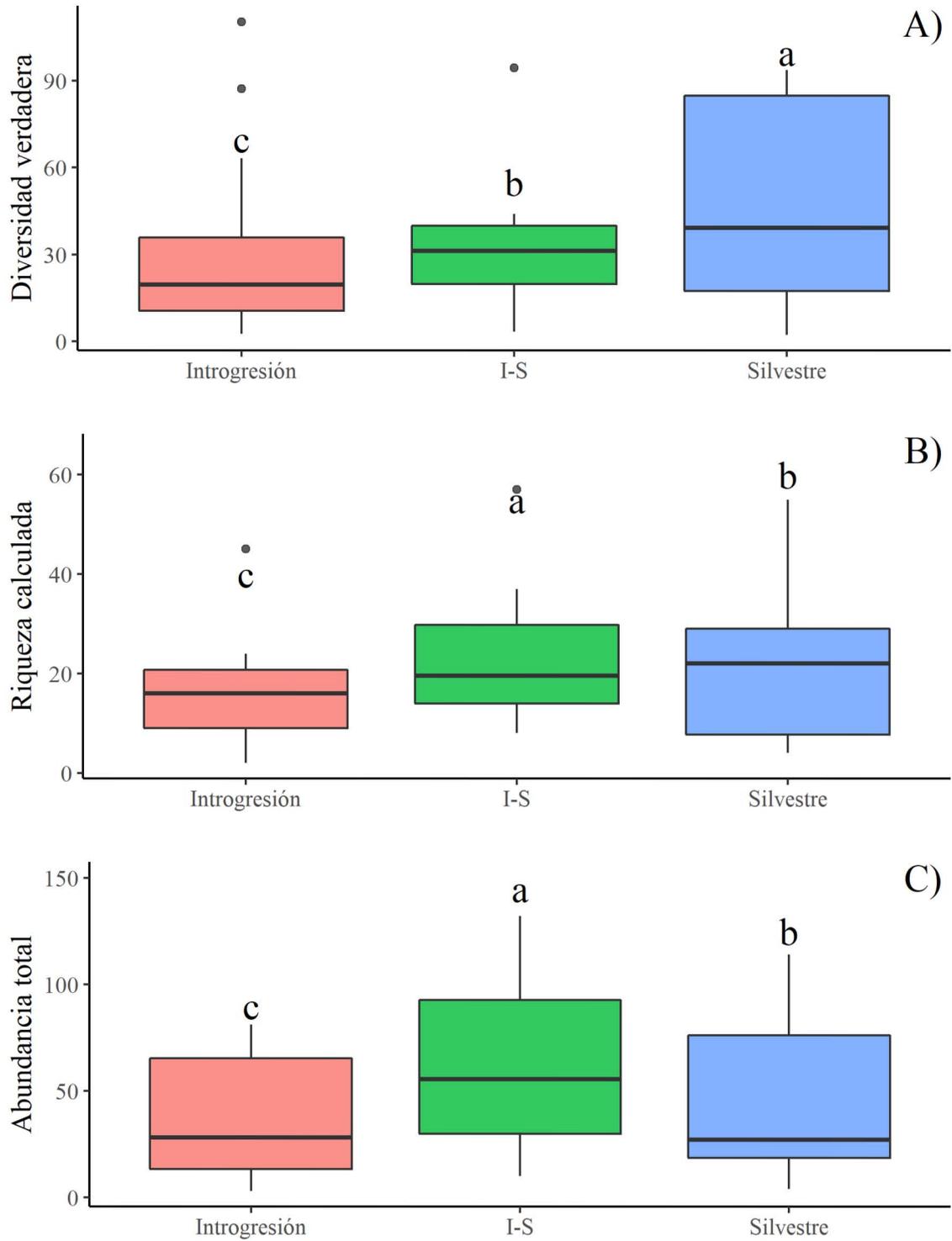


Figura 16. Diversidad verdadera (A), riqueza calculada (B) y abundancia total (C) de predadores presentes en metapoblaciones silvestres, introgresadas y con poblaciones introgresadas y silvestres (I-S). Letras diferentes denotan diferencias significativas con base en la prueba post hoc de Tukey $p < 0.005$.

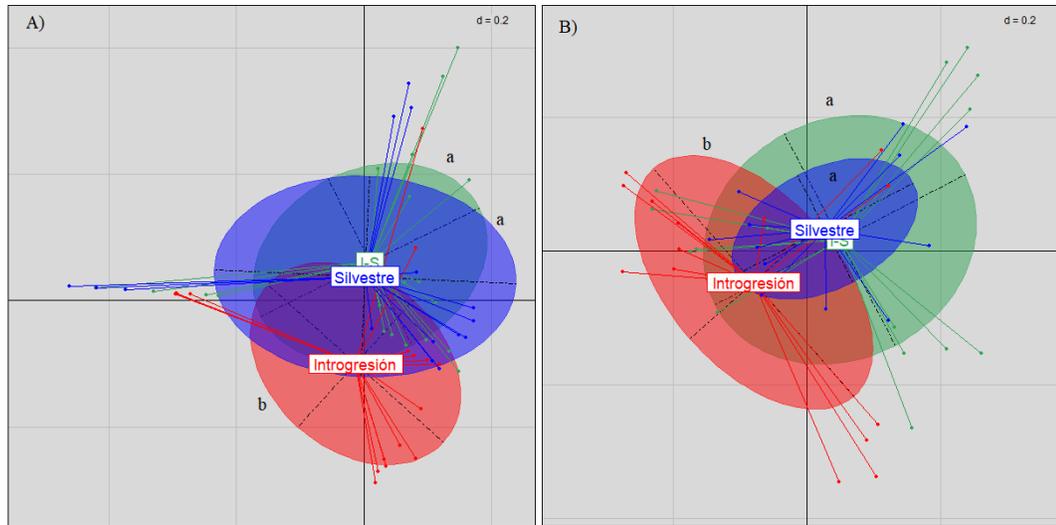


Figura 17. Composición de artrópodos por grupos funcionales entre categorías. a) Herbívoro y b) Predadores.

Tabla 8. Resultados de la prueba de adonis para comparar los grupos formados por el PCoA por grupos funcionales.

Parámetro	Factor	df	ChiSquare	F	P
Herbívoro	Tipo de planta	2, 52	0.82	1.54	0.008
	Sitio	5, 52	0.33	1.24	0.27
	Precipitación	1, 52	0.22	0.85	0.79
	Temperatura	1, 52	0.35	1.35	0.12
Predadores	Tipo de planta	2, 52	1.08	1.60	0.001
	Sitio	5, 52	0.34	1,02	0.68
	Precipitación	1, 52	0.37	1.09	0.64
	Temperatura	1, 52	0.28	0.85	0.96
Polinívoros	Tipo de planta	2, 52	0.70	1.24	0.07
	Sitio	5, 52	0.23	0.82	0.43
	Precipitación	1, 52	0.23	0.83	0.63
	Temperatura	1, 52	0.22	0.79	0.55
Parasitismo	Tipo de planta	2, 52	1.38	1.09	0.17
	Sitio	5, 52	0.81	1.29	0.06
	Precipitación	1, 52	0.62	0.98	0.60
	Temperatura	1, 52	0.60	0.96	0.69

Discusión y conclusión

Con base en nuestros resultados, la presencia de proteínas recombinantes afecta la estructura de la comunidad de artrópodos al disminuir la riqueza y abundancia de los organismos no blanco, cuando la proteína recombinante *CryIAb/Ac* se expresa en plantas silvestres de algodón. Por otro lado, en algodón con transgenes se redujo la diversidad de artrópodos herbívoros y predadores, además de disminuir su riqueza y abundancia, de manera que las proteínas recombinantes afectan el número y variedad de funciones ecológicas de los artrópodos en niveles tróficos superiores. Esto sugiere que la comunidad de artrópodos responde a las diferencias genéticas de la planta huésped.

La metodología seguida en este estudio puede emplearse para el monitoreo de la diversidad de artrópodos a largo plazo en virtud de cuantificar las consecuencias de transgenes en poblaciones silvestres dentro del centro de origen y diversidad de las plantas hospederas. Asimismo, este trabajo contribuye a determinar la dinámica ecológica de la expresión de transgenes en plantas silvestres bajo un contexto real, dentro del centro de origen y diversidad de las plantas de algodón. Por lo consiguiente, la presencia de proteínas *CryIAb/Ac*, en plantas de algodón silvestre se une a la cadena de factores que determinan las comunidades de artrópodos.

Comunidad de artrópodos en los vecindarios

Cuando se comparó la comunidad de artrópodos asociados al vecindario entre las metapoblaciones PY, PS y PC, no se encuentran diferencias significativas en la riqueza (Figura 4), abundancia (Figura 5), diversidad (Figura 6 y 7) y composición de artrópodos (Figura 8). Lo cual sugiere que la amplitud del nicho circundante a la artropofauna se mantiene estable a lo largo de la distribución puntual de algodón silvestre dentro de su centro de origen y diversidad. Cabe resaltar que las condiciones ambientales son la segunda fuerza que proporciona estructura a la comunidad de artrópodos asociada, sólo después de la planta hospedera (Schowalter, 2011). En este sentido, al no encontrar diferencias significativas entre las comunidades de artrópodos del vecindario entre metapoblaciones, la comparación de la artropofauna entre plantas de algodón con y sin transgenes es factible. Por ello planteamos que las áreas con plantas de algodón en las mismas condiciones ambientales deberían compararse de la misma manera, sin cambios significativos.

Comunidad de artrópodos entre metapoblaciones de algodón silvestre

Por otro lado, la reducción en la riqueza y abundancia relativa de artrópodos en plantas con transgenes, podría deberse entre varias razones más, a causa y el efecto: la presencia del transgén afecta el desarrollo o es letal para los organismos (Lawo et al., 2010) o bien, a que el algodón con transgenes cambia la composición química de las hojas, particularmente la concentración de taninos (Ma et al., 2014), lo cual podría hacer a los tejidos vegetales menos apetitosos para algunos artrópodos, y por lo tanto sugiere que los artrópodos son capaces de responder a la diferencia genética, expresada en la química foliar de sus plantas hospederas (Pons et al., 2005).

Otras consecuencias no esperadas en plantas de algodón GM debido a modificaciones genéticas, son cambios fisiológicos en la arquitectura radial de algodón transgénico con respecto a su isolínea convencional (Vargas-Bejarano et al., 2012). Además de mayor actividad deshidrogenasa en la rizosfera en algodón *Bt*, lo cual se relacionó con la variación temporal y espacial del número de nematodos, colémbolos y hormigas entre algodón con y sin transgenes (Mina y Chaudhary, 2011).

Mientras que Tarkalson et al. (2008) detectan menores tasas de descomposición a consecuencia de las diferencias en carbono total, relación C:N y biomasa entre maíz *Bt* y no *Bt*. Con ello aumenta la probabilidad de interacción con los organismos no blanco por vía ambiental o por alimentación directa (Tarkalson et al., 2008). Asimismo, se ha detectado la persistencia de proteínas recombinantes en el suelo hasta 2 semanas de incubación a 25°C. (Hung et al. 2016). Donde solo se ha degradado el 60% de las proteínas recombinantes inoculadas; lo cual se relacionó con afectación continua de la diversidad funcional de los organismos asociados (Zhang et al. 2017). Sin embargo, las proteínas Cry son capaces de persistir ya que las raíces pueden mantenerse viables (Miethling-Graff et al., 2010).

En este sentido, los cambios no esperados en el fenotipo a consecuencia de pleiotropía, epistasis o mutagénesis insercional, pueden afectar la cantidad y calidad de recursos ofrecidos por las plantas transgénicas (hojas, tallos, néctar) (Hernández-Terán et al., 2017), cambios capaces de modificar los recursos disponibles para los artrópodos asociados. A su vez estos cambios no esperados que se expresan en el fenotipo en caracteres que están directamente relacionados con la adecuación de las plantas (Hernández-Terán et al., 2017).

Estructura de la comunidad de artrópodos en plantas de algodón con y sin transgenes

Al comparar la estructura de la comunidad de artrópodos de plantas con transgenes, el grupo de los coleópteros tuvo 50% menos morfoespecies y fue 67% menos abundante; el orden Hemiptera presentó 47% menor riqueza y su abundancia se redujo 46% y, por último, se encontró 20% menos morfoespecies de arañas y su abundancia disminuyó 45% (Tabla 6). La reducción en grupos de artrópodos no blanco a consecuencia modificaciones genéticas ha sido reportada en la literatura. En el trabajo realizado por Naranjo (2005), se reporta la reducción de 19% de cinco especies de predadores en plantas de algodón con y sin transgenes.

En nuestro estudio, la riqueza de dípteros aumentó 15% y se encontró 80% más abundancia en plantas con transgenes. Además, se encontró 50% más morfoespecies de himenópteros sin embargo su abundancia fue 70% menor, con respecto a los encontrados en algodón silvestre (Tabla 6). También existen investigaciones que reportan aumentos poblacionales de insectos cuando proteínas recombinantes están presentes en las plantas hospederas (Wang et al., 2016), sin embargo, esto no debe ser interpretado como una ampliación proporcional en la complejidad o sanidad de las poblaciones vegetales residentes, ya que en ocasiones pueden tratarse de especies oportunistas o invasoras que, al encontrar nichos vacíos se incorporan a la comunidad de artrópodos y aumentan el tamaño poblacional por cortos periodos de tiempo al carecer de predadores naturales (Price et al., 2011).

Es importante resaltar que las morfoespecies de lepidópteros con mayor abundancia en plantas silvestres sin transgenes pertenecen a la familia Pierididae; esta familia tuvo cero registros en algodón con transgenes. Cabe señalar que la familia Pierididae es reportada como grupo hermano adyacente a las principales plagas de algodón domesticado (*Helicoverpa armígera*, *Pectinophora gossypiella*) (Mitter et al., 2017; Regier et al., 2013).

En el caso de los lepidópteros asociados a plantas de algodón con transgenes se redujo el número de morfoespecies en 14% y aumentó la abundancia 9% (Tabla 6). Esto es congruente con los resultados de Johnson et al. (1995), donde se reporta la reducción de 3 especies de lepidópteros no blanco cuando están asociadas a árboles roseados con *Bt*. Por

otro lado, si aumenta la abundancia de pocas especies disminuye la diversidad global de artrópodos.

Cuando se comparó el rol funcional de los artrópodos en algodón con y sin transgenes encontramos que los herbívoros y predadores, tuvieron menor la riqueza, abundancia y diversidad en plantas con transgenes en comparación con el algodón silvestre sin transgenes; además la composición de organismos fue significativamente distinta. Los herbívoros pueden interactuar directamente con los transgenes al exponerse a tejidos, polen, fluidos y exudados de las plantas GM (Andow y Hilbeck, 2004) además de estar en contacto con hojas dañadas o tejidos secundarios como el tallo o raíces. Como lo reportó (Bernal et al., 2002) donde encontraron proteínas *Bt* en savia del floema y en gotas de néctar (Raps et al., 2001).

Las modificaciones genéticas cambian el número de las interacciones bióticas que mantienen y disminuyen las conexiones entre nodos presentes en la red trófica (Pálinkás et al., 2018), a consecuencia de las presiones que ejercen las fuerzas ascendentes en los ecosistemas (Schowalter, 2011). Por lo tanto, la reducción en la riqueza, abundancia y diversidad de herbívoros y predadores en plantas con transgenes que se registró en nuestro estudio, puede modificar las interacciones bióticas y el rol funcional que mantienen los artrópodos.

En este sentido, en experimentos de laboratorio y campo, se ha cuantificado la acumulación de proteínas recombinantes en tejidos de herbívoros y predadores, de manera que se describe el flujo del transgen entre niveles tróficos. Con base en pruebas inmunológicas de ELISA se detectó que herbívoros alimentados con algodón transgénico contenían de 5 a 50% de las concentraciones de proteína *Bt* en las hojas. Del mismo modo, los depredadores contenían de 1 a 30% de la concentración de proteína *Cry* de las presas alimentadas con plantas *Bt* (Meissle y Romeis, 2017). En otro estudio se detectó la proteína *CryIAc* en el cuerpo de 10 de 16 taxones de artrópodos alimentados con hojas de col *Bt*; también se identificó en 5 de 9 taxas de predadores y parasitoides (Kim et al., 2018). Las concentraciones más altas las presentaron larvas de las familias Pieridae y Noctuidae del orden Lepidoptera (Kim et al., 2018). Estos resultados son importantes porque en nuestra investigación encontramos reducción de la riqueza esas mismas familias en algodón con transgenes.

Con respecto a los artrópodos predadores asociados a algodón con transgenes, estos pueden interactuar con las proteínas recombinantes insecticidas a través de una amplia gama de enlaces tróficos, ya que a menudo son organismos omnívoros de otros artrópodos (Whittington, 2001). El escalamiento trófico de proteínas *Cry* también reportado por Zhang et al, 2004, donde encontraron proteínas *Cry* en el áfido algodonero (*Aphis gossypii*) sobre algodón *Bt*. Este hecho aumenta la probabilidad de que crisopas (principales predadores en algodón) encuentren algunos herbívoros que ingirieron proteínas *Cry* provenientes de algodón transgénico (Albuquerque et al., 2014). Una década más tarde se observaron cambios en la dieta de crisopas predadoras, quienes consumían presas con contenido diferencial de azúcar cuando se alimentaron con y sin tejido transgénico (Lawo et al., 2010). Además se han encontrado efectos adversos sobre en las pupas de crisopas alimentadas con áfidos provenientes de algodón con transgenes (Guo et al., 2008).

La conservación de las comunidades de predadores es de importancia ecosistémica, ya que regulan y suprimen poblaciones de insectos plaga, además de tener un valor intrínseco como parte de los elementos de origen y mantienen la biodiversidad. Al afectar el número de predadores distintos y sus abundancias relativas pueden afectar la función ecosistémica, mediante procesos ecológicos *top-down* (Schoonhoven et al., 2005). Por estas razones, los análisis de rol funcional de los artrópodos deben ser considerados en las evaluaciones de riesgos de OGM.

Si bien en la muestra de esta investigación, los parasitoides se registran con cambios que no son significativos, es importante destacar que existen estudios que concluyen la disminución de la longevidad y la fecundidad de poblaciones de parasitoides a consecuencia del consumo de lectinas purificadas en soluciones de azúcar provenientes de modificaciones genéticas (Romeis et al., 2003, Bell et al. 2004), y que cuando disminuye la población blanco de un parasitoide es muy probable que simplemente se mueva a otra planta donde pueda encontrar a su hospedero (Chown y Nicolson, 2004). Así que para investigar los posibles efectos reportados en la literatura sobre parasitoides, la escala y métodos de experimento deberían modificarse.

Consideraciones finales y recomendaciones

A más de 20 años de la liberación al ambiente de algodón genéticamente modificado en México y a ocho años de la publicación del artículo de Wegier *et al* 2011 (dónde se describe la presencia de cuatro proteínas recombinantes en las plantas silvestres de *Gossypium hirsutum*), el país carece de protocolos, investigaciones y fondos gubernamentales para la evaluación de las consecuencias ambientales de la liberación de transgenes en esta especie y en cualquier otra. Por ello es relevante aportar la línea base que permitirá realizar comparaciones futuras y un seguimiento sistemático de los efectos aquí registrados.

El diseño experimental aquí propuesto fue diseñado por las condiciones registradas directamente del campo, es decir, nuestra estrategia de colecta de artropofauna se adaptó a las propiedades del sistema estudiado. Seguir esta estrategia nos permitió evaluar el daño ambiental ocasionado por la presencia de transgenes en condiciones reales y con ello tratar de describir lo más puntualmente la dinámica ecológica presente entre plantas de algodón con y sin transgenes y sus artrópodos asociados. Con ello es importante recomendar que cada investigación deberá ser abalada por grupos de expertos en el diseño experimental con el fin de lograr responder preguntas considerando el entorno, especie, transgen y niveles ecológicos. Con este diseño experimental se pudieron analizar cambios en poblaciones y comunidades.

Cabe resaltar que la tecnología que desarrolla la ingeniería genética y particularmente el diseño de proteínas recombinantes con función insecticida como las *Cry*, tienen una visión lineal, reduccionista y unidireccional de los procesos ecosistémicos. Ya que consideran que un sólo gen se relaciona con sólo una función, sin considerar efectos pleiotrópicos, ignorando procesos de epistasis entre múltiples genes y sin considerar las interacciones multitróficas que se llevan a cabo en los ecosistemas.

En este sentido nuestro estudio busca implementar la información base para el monitoreo de la diversidad, detectar riesgos ante los transgénicos en vida libre. Con nuestros resultados, se abren nuevas preguntas de investigación sobre los efectos ecológicos y evolutivos de la ingeniería genética en las comunidades de artrópodos residentes. Ahora es

necesario, caracterizar los procesos que favorecen desarrollo de resistencia de ciertas especies de lepidópteros, así como las relaciones filogenéticas que mantienen. Asimismo, determinar si existe un daño en la biología evolutiva del desarrollo de ONB a consecuencia de la presencia de transgenes en plantas hospedera, y si éste disminuye conforme aumentan las distintas filogenéticas entre organismos blanco y no blanco de la tecnología recombinante.

Bibliografía

- Adjei-Mafo, I. K. (1980). *Effects of the nectariless cotton tract on insect pests, parasites and predators with special reference to the effects on the reproductive characteristics of Heliothis spp.* University of Queensland, St Lucia, Australia.
- Albuquerque, G. S., Tauber, C. A., & Tauber, M. J. (2014). *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa* spp.: potential for biological control in the New World tropics and subtropics. In *Lacewings in the Crop Environment* (pp. 408–423). <https://doi.org/10.1017/CBO9780511666117.025>
- Andaw, D., & Hilbeck, A. (2004). Science-Based Risk Assessment for Nontarget Effects of Transgenic Crops. *Bioscience*, *54*(7), 637–649. Retrieved from [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0637:SRAFNE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0637:SRAFNE]2.0.CO;2)
- Barbosa, P., Saunders, J. A., Kemper, J., Trumbule, R., Olechno, J., & Martinat, P. (1986). Plant allelochemicals and insect parasitoids effects of nicotine on *Cotesia congregata* (say) (Hymenoptera: Braconidae) and *Hyposoter annulipes* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Chemical Ecology*, *12*(6), 1319–1328. <https://doi.org/10.1007/BF01012351>
- Barbour, J. D., Farrar, R. R., & Kennedy, G. G. (1993). Interaction of *Manduca sexta* resistance in tomato with insect predators of *Helicoverpa zea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *68*(2), 143–155. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1993.tb01697.x>
- Begon, M., Townsend, C. R., & Harper, J. L. (2009). *Ecology: From Individuals to Ecosystems* (Fourth Edi). Australia: John Wiley & Sons. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=uGAqEp4AsfcC&pgis=1>
- Bernal, C. C., Aguda, R. M., & Cohen, M. B. (2002). Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *102*(1), 21–28. <https://doi.org/10.1023/A:1015278618586>
- Borror, D., Triplehorn, C., & Johnson, N. (1989). *An introduction to the study of insects* (7°). Retrieved from <http://www.cabdirect.org/abstracts/19911158798.html>

- Bozer, S. F., Traugott, M. S., & Stamp, N. E. (1996). Combined effects of allelochemical-fed and scarce prey on the generalist insect predator *Podisus maculiventris*. *Ecological Entomology*, *21*(4), 328–334. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1996.00011.x>
- Campbell, B. C., & Duffey, S. S. (1979). Tomatine and parasitic wasps: potential incompatibility of plant antibiosis with biological control. *Science*, *205*(4407), 700–702. <https://doi.org/10.1126/science.205.4407.700>
- Campos, F., Donskov, N., Arnason, J. T., Philogene, B. J. R., Atkinson, J., Morand, P., & Werstiuk, N. H. (1990). Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in {*Idiadegma terebrans*} (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of {*Ostrinia nubilalis*} (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, *83*(1970), 356–360.
- Chao, A., Gotelli, N. J., Hsieh, T. C., Sander, E. L., Ma, K. H., Colwell, R. K., & Ellison, A. M. (2014). Rarefaction and extrapolation with Hill numbers : A framework for sampling and estimation in species diversity studies Rarefaction and extrapolation with Hill numbers : a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs*, *84*(1), 45–67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>
- Chown, S. L., & Nicolson, S. W. (2004). *Insect physiological ecology: mechanisms and patterns*. Retrieved from http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=xJ5xURYWuzYC&oi=fnd&pg=PR7&dq=Insect+Physiological+Ecology.+Mechanisms+and+patterns&ots=yE4Vo4niF4&sig=oSiqfYp_IKIhhtovt9USnZ89qI0
- de Faria, M. R., Lundgren, J. G., Fontes, E. M. G., Fernandes, O. A., Schmidt, F. G. V., Tuat, N. V., & Andow, D. A. (2006). Assessing the effects of Bt cotton on generalist arthropod predators. In *Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Series* (Vol. 2, pp. 1–25).
- Dorie, V. (2014). *Mixed Methods for Mixed Models*.
- Douglas, B., Bolker, B., Walker, S., Singmann, H., Dai, B., Scheipl, F., ... Green, P. (2017). Package ‘lme4.’ <https://doi.org/10.2307/2533043>
- Dray, S., & Dufour, A.-B. (2007). The **ade4** Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software*, *22*(4). <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Elheneidy, A. H., Barbosa, P., & Gross, P. (1988). Influence of Dietary Nicotine on the Fall Armyworm, Spodoptera-Frugiperda and Its Parasitoid, the Ichneumonid Wasp Hyposoter-Annulipes. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *46*(3), 227–232.
- Eelsey, K. D., & Chaplin, J. F. (1978). Resistance of tobacco introduction 1112 to the tobacco budworm and green peach aphid. *J. Econ. Entomol.*, *71*, 723–725. <https://doi.org/10.1093/jee/71.5.723>
- Farrar jr, R. R., Barbour, J. D., & Kennedy, G. G. (1994). Field evaluation of insect resistance in a wild tomato and its effects on insect parasitoids. *Entomol. Exp. Appl.*, *71*, 211–226.
- Farrar, R. R., Kennedy, G. G., & Kashyap, R. K. (1992). Influence of Life-History Differences of 2 Tachinid Parasitoids of *Helicoverpa-Zea* (Boddie) (Lepidoptera,

- Noctuidae) on Their Interactions with Glandular Trichome Methyl Ketone-Based Insect Resistance in Tomato. *Journal of Chemical Ecology*, 18(3), 499–515. Retrieved from [wos:A1992HJ61400018](https://doi.org/10.1023/A:1022592711140)
- Fuentes-Contreras, E., & Niemeyer, H. M. (1998). Dimboa glucoside, a wheat chemical defense, affects host acceptance and suitability of Sitobion avenae to the cereal aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphii*. *Journal of Chemical Ecology*, 24(2), 371–381. <https://doi.org/10.1023/A:1022592711140>
- Guo, J. Y., Wan, F. H., Dong, L., Lovei, G. L., & Han, Z. J. (2008). Tri-trophic interactions between Bt cotton, the herbivore *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), and the predator *Chrysopa pallens* (Rambur) (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol*, 37(1), 263–270. [https://doi.org/10.1603/0046-225x\(2008\)37\[263:tibbct\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0046-225x(2008)37[263:tibbct]2.0.co;2)
- Hernández-Terán, A., Wegier, A., Benítez, M., Lira, R., & Escalante, A. E. (2017). Domesticated, Genetically Engineered, and Wild Plant Relatives Exhibit Unintended Phenotypic Differences: A Comparative Meta-Analysis Profiling Rice, Canola, Maize, Sunflower, and Pumpkin. *Frontiers in Plant Science*, 8(December), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02030>
- Herzog, D. C., & Funderburk, J. E. (1985). Plant resistance and cultural practice interactions with biological control. In *Biology Control in Agriculture Ipm System* (p. iv). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-357030-7.50003-X>
- Hilbeck, A., McMillan, J. M., Meier, M., Humbel, A., Schläpfer-Miller, J., & Trtikova, M. (2012). A controversy re-visited: Is the coccinellid *Adalia bipunctata* adversely affected by Bt toxins? *Environmental Sciences Europe*, 24(1), 10. <https://doi.org/10.1186/2190-4715-24-10>
- Hothorn, T., Bretz, F., Westfall, P., Heiberger, R. M., Schuetzenmeister, A., & Scheibe, S. (2017). Package ‘multcomp.’
- Johnson, K. S., Scriber, J. M., Nitao, J. K., & Smitley, D. R. (1995). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* to three nontarget Lepidoptera in field studies. *Environmental Entomology*, 24(2), 288–297. <https://doi.org/10.1093/ee/24.2.288>
- Kaneda, C. (1986). Interaction between resistant rice cultivars and natural enemies in relation to the population growth of the brown planthopper. In *Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects* (p. 117–137.). Chichester: Ellis Horwood.
- Kim, Y.-J., Lee, J.-H., Harn, C. H., & Kim, C.-G. (2018). Levels of Cry1Ac1 protein in herbivorous and predatory arthropods in fields of *Bacillus thuringiensis* cabbage. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(3), 1048–1053. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.07.023>
- Lawo, N. C., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2010). Characterizing indirect prey-quality mediated effects of a Bt crop on predatory larvae of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. *Journal of Insect Physiology*, 56(11), 1702–1710. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.06.012>
- Lenteren van, J. C. van. (1991). Biological control in a tritrophic system approach. In

Proceedings Aphid plant interactions: Populations to molecules, Stillwater, Oklahoma USA (Vol. 78, pp. 3–28).

- Lenteren van, J. C. van, Eggenkamp-Rotteveel Mansveld, M. H., & Ellenbroek, F. J. M. (1995). The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). V. Population dynamics of *Trialeurodes vaporariorum* and *Encarsia formosa* in a glasshouse. *Journal of Applied Entomology*, *4*(119), 125–137.
- Lewis, W. J., & Takasu, K. (1990). Use of learned odours by a parasitic wasp in accordance with host and food needs. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/348635a0>
- Lingren, P. D., Lukefahr, M. J., Diaz-Jr., M., & Hartstack-Jr., A. (1978). Tobacco budworm control in caged cotton with a resistant variety, augmentative releases of *Campoletis sonorensis*, and natural control by other beneficial species. *J. Econ. Entomol.*, *71*, 739–745.
- Ma, H., Zhao, M., Wang, H., Wang, Z., Wang, Q., & Dong, H. (2014). Comparative incidence of cotton spider mites on transgenic Bt versus conventional cotton in relation to contents of secondary metabolites. *Arthropod-Plant Interactions*, *8*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11829-014-9291-6>
- Meissle, M., & Romeis, J. (2017). Transfer of Cry1Ac and Cry2Ab proteins from genetically engineered Bt cotton to herbivores and predators. *Insect Science*. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12468>
- Miethling-Graff, R., Dockhorn, S., & Tebbe, C. C. (2010). Release of the recombinant Cry3Bb1 protein of Bt maize MON88017 into field soil and detection of effects on the diversity of rhizosphere bacteria. *European Journal of Soil Biology*, *46*(1), 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.10.003>
- Mina, U., & Chaudhary, A. (2011). Effect of Bt Cotton on Enzymes Activity and Microorganisms in Rhizosphere. *Science*, *3*(1), 96–105. <https://doi.org/10.5539/jas.v3n1p96>
- Mitter, C., Davis, D. R., & Cummings, M. P. (2017). Phylogeny and Evolution of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, *62*(1), 265–283. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035125>
- Mutanen, M., Wahlberg, N., & Kaila, L. (2010). Comprehensive gene and taxon coverage elucidates radiation patterns in moths and butterflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1695), 2839–2848. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0392>
- Nair, K. S. S. (2007). *Tropical Forest Insect Pests: Ecology, Impact, and Management* (1a edición). Cambridge: Cambridge University Press. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=QvOPufXCJq0C&pgis=1>
- Naranjo, S. E. (2005). Long-term assessment of the effects of transgenic Bt cotton on the function of the natural enemy community. *Environmental Entomology*, *34*(5), 1211–1223. Retrieved from [http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/0046-225X\(2005\)034\[1211:LAOTEO\]2.0.CO;2](http://www.bioone.org/doi/abs/10.1603/0046-225X(2005)034[1211:LAOTEO]2.0.CO;2)

- Obrycki, J. J., Tauber, M. J., & Tingey, W. M. (1983). Predator and parasitoid interaction with aphid-resistant potatoes to reduce aphid densities: a two-year field study. *Journal of Economic Entomology*, 76(3), 456–462. <https://doi.org/10.1093/jee/76.3.456>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., ... Oksanen, M. J. (2018). Package “vegan.” Retrieved from <https://github.com/vegandevs/vegan/issues%0Ahttps://github.com/vegandevs/vegan/issues%0Ahttps://github.com/vegandevs/vegan/issues>
- Orr, D. B., & Boethel, D. J. (1986). Influence of plant antibiosis through four trophic levels. *Oecologia*, 70(2), 242–249. <https://doi.org/10.1007/BF00379247>
- Pálinkás, Z., Zalai, M., Szénási, Á., Dorner, Z., Kiss, J., North, S., ... Balog, A. (2018). Arthropods dataset from different genetically modified maize events and associated controls. *Scientific Data*, 5, 3–8. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.19>
- Paradise, C. J., & Stamp, N. E. (1990). Variable quantities of toxic diet cause different degrees of compensatory and inhibitory responses by juvenile praying mantids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 55(3), 213–222. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01365.x>
- Peacock, K. W. (2010). *Biotechnology and Genetic Engineering*. Infobase Publishing. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=GwpsVDKQcSUC&pgis=1>
- Pons, X., Lumbierres, B., López, C., & Albajes, R. (2005). Abundance of non-target pests in transgenic Bt-maize: A farm scale study. *European Journal of ...*, (102), 73–79. Retrieved from <http://www.ask-force.org/web/Bt/Pons-Abundance-Non-target-2005.pdf>
- Prather, C. M., Pelini, S. L., Laws, A., Rivest, E., Woltz, M., Bloch, C. P., ... Joern, —a. (2013). Invertebrates, ecosystem services and climate change. *Biological Reviews*, 88(2), 327–348. <https://doi.org/10.1111/brv.12002>
- Price, P. W., Denno, R. F., Eubanks, M. D., Finke, D. L., & Kaplan, I. (2011). *Insect ecology: behavior, populations and communities*. New York: Cambridge University Press, 2011. Retrieved from http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=3FNUALVdArYC&oi=fnd&pg=PR5&dq=Insect+Ecology:+Behavior,+Populations+and+Communities&ots=_KhUE88lfy&sig=we8CfXG1xfn728iFZ7M0o_oIpsQ
- Rabb, R. L., & Bradley, J. R. (1968). The influence of host plants on parasitism of eggs of the tobacco hornworm. *Journal of Economic Entomology*, 61(5), 1249–1252. <https://doi.org/10.1093/jee/61.5.1249>
- Raps, A., Kehr, J., Gugerli, P., Moar, W. J., Bigler, F., & Hilbeck, A. (2001). Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Molecular Ecology*, 10(2), 525–533. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01236.x>
- Regier, J. C., Mitter, C., Zwick, A., Bazinet, A. L., Cummings, M. P., Kawahara, A. Y., ... Mitter, K. T. (2013). A Large-Scale, Higher-Level, Molecular Phylogenetic Study of

- the Insect Order Lepidoptera (Moths and Butterflies). *PLoS ONE*, 8(3).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058568>
- Rice, M. E., & Wilde, G. E. (1989). Antibiosis Effect of Sorghum on the Convergent Lady Beetle (Coleoptera, Coccinellidae), a 3Rd-Trophic Level Predator of the Greenbug (Homoptera, Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 82(2), 570–573.
- Samways, M. J. (2007). Insect conservation: a synthetic management approach. *Annual Review of Entomology*, 52, 465–487.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091317>
- Schmidt, J. E. U., Braun, C. U., Whitehouse, L. P., & Hilbeck, A. (2009). Effects of activated Bt transgene products (Cry1Ab, Cry3Bb) on immature stages of the ladybird *adalia bipunctata* in laboratory ecotoxicity testing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(2), 221–228. <https://doi.org/10.1007/s00244-008-9191-9>
- Schoonhoven, L. M., Loon, J. J. A. van, & Dicke, M. (2005). *Insect-Plant Biology* (Segunda ed). Oxford, New York: OUP Oxford. Retrieved from http://books.google.com.mx/books/about/Insect_Plant_Biology.html?id=P6Z9ZlujLaQC&pgis=1
- Schowalter, T. D. (2011). *Insect Ecology: An Ecosystem Approach* (Segunda Ed). San Diego, California, USA: Academic Press. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=2KzokTLIysQC&pgis=1>
- Schuster, D. ., & Calderon, M. (1986). Interactions of host plant resistant genotypes and beneficial insects in cotton ecosystems. In *Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects* (pp. 84–97).
- Schuster, D. J., & Starks, K. J. (1975). Preference of *Lysiphlebus testaceipus* for Greenbug resistant and susceptible small grain species. *Environ. Entomol.*, 4, 887–888.
- Southwood, S. R., & Henderson, P. A. (2000). *Ecological Methods* (Tercera ed). University of Oxford, South Parks Road, Oxford. Retrieved from http://books.google.es/books/about/Ecological_Methods.html?hl=es&id=dNb6HlrrvdcC&pgis=1
- Stapel, J. O., Cortesero, A. M., De Moraes, C. M., Tumlinson, J. H., & Lewis, W. J. (1997). Extrafloral Nectar, Honeydew, and Sucrose Effects on Searching Behavior and Efficiency of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) in Cotton. *Environmental Entomology*, 26(3), 617–623. <https://doi.org/10.1093/ee/26.3.617>
- Strohmeyer, H. H., Stamp, N. E., Jarzowski, C. M., & Bowers, M. D. (1998). Prey species and prey diet affect growth of invertebrate predators. *Ecological Entomology*, 23(1), 68–79. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1998.00101.x>
- Sundaramurthy, V. (2010). The impacts of the transgenes on the modified crops, non-target soil and terrestrial organisms. *African Journal of Biotechnology*, 9(54), 9163–9176. Retrieved from http://xa.yimg.com/kq/groups/22258583/1281221990/name/2.IMPACT+OF+GM_REVIEW.pdf

- Tabashnik, B. E., Brévault, T., & Carrière, Y. (2013). Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. *Nature Biotechnology*, *31*(6), 510–521. <https://doi.org/10.1038/nbt.2597>
- Tarkalson, D. D., Kachman, S. D., Knops, J. M. N., Thies, J. E., & Wortmann, C. S. (2008). Decomposition of Bt and non-Bt corn hybrid residues in the field. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, *80*(3), 211–222. <https://doi.org/10.1007/s10705-007-9135-1>
- Thorpe, K. W., & Barbosa, P. (1986). Effects of consumption of high and low nicotine tobacco by *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) on survival of gregarious endoparasitoid *Cotesia congregata* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, *12*(6), 1329–1337. <https://doi.org/10.1007/BF01012352>
- Thurston, R., & Fox, P. M. (1972). Inhibition by Nicotine of Emergence of *Apanteles congregatus* from Its Host, the Tobacco Hornworm. *Annals of the Entomological Society of America*, *65*(3), 547–550. <https://doi.org/10.1093/aesa/65.3.547>
- Torres, J. B., & Ruberson, J. R. (2008). Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. *Transgenic Research*, *17*(3), 345–354. <https://doi.org/10.1007/s11248-007-9109-8>
- Tóthmérész, B. (1995). Comparison of different methods for diversity ordering. *Journal of Vegetation Science*, *6*(2), 283–290. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2307/3236223/abstract>
- Traugott, M. S., & Stamp, N. E. (1997). Effects of chlorogenic acid-and tomatine-fed caterpillars on performance of an insect predator. *Oecologia*, *109*(2), 265–272.
- Treacy, M. F., Benedict, J. H., Walmsley, M. H., Lopez, J. D., & Morrison, R. K. (1987). Parasitism of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) eggs on nectaried and nectariless cotton. *Environmental Entomology*, *16*, 420–423.
- Van Emden, H. F. (1986). The interaction of plant resistance and natural enemies: effects on populations of sucking insects. In *Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects* (p. 224pp.). Chichester: Ellis Horwood. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19860533650>
- Vargas-Bejarano, E., Mendez-Trujillo, V., Angulo, J. C. V, Gonzalez-Mendoza, D., & Juarez, O. G. (2012). Physiological changes in transgenic cotton inoculated with *Trichoderma* spp. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, *81*(686), 101–105.
- Wegier, A. (2013). *Diversidad genética y conservación de Gossypium hirsutum silvestre y cultivado en México*. *biodiversidad.gob.mx*. Universidad Nacional Autónoma de México. Retrieved from http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/Wegier2013_AR.pdf
- Wegier, A., Piñeyro-Nelson, A., Alarcón, J., Gálvez-Mariscal, A., Alvarez-Buylla, E. R., & Piñero, D. (2011). Recent long-distance transgene flow into wild populations conforms to historical patterns of gene flow in cotton (*Gossypium hirsutum*) at its centre of origin. *Molecular Ecology*, *20*(19), 4182–4194. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

294X.2011.05258.x

Whittington, A. E. (2001). *Lacewings in the Crop Environment* (1^o). Cambridge: Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511666117>

Zhang, G., Wan, F., Lövei, G. L., & Liu, W. (2006). Transmission of Bt Toxin to the Predator *Propylaea japonica* (Coleoptera : Coccinellidae) Through Its Aphid Prey Feeding on Transgenic Bt Cotton Transmission of Bt Toxin to the Predator *Propylaea japonica* (Coleoptera : Coccinellidae) Through Its Aphid. *Environmental Entomology*, 35(1), 143–150. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.1.143>