



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Análisis De La Presencia De Proteínas De Maíces
Genéticamente Modificados En Variedades De Maíz Nativo
En México

REPORTE DE TRABAJO PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO(A),

P R E S E N T A :

FLOR RIVERA LÓPEZ

DR. DANIEL PIÑERO DALMAU

2009



<p>1. Datos del alumno Rivera López Flor 56.61.19. 25 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 09560636-3</p>
<p>2. Datos del tutor Dr. Piñero Dalmau Daniel</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 Dra. Roces Álvarez-Buylla Elena</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Dra. Vázquez-Lobo Yurén Alejandra</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 M. en C. Wegier Briuolo Ana Laura</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 Biól. Piñeyro Nelson Alma Amparo</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito. Reporte de experiencia laboral: Análisis de la presencia de proteínas de maíces genéticamente modificados en variedades de maíz nativo en México 36 p. 2009</p>

PRESENTACIÓN

El presente trabajo detalla las actividades profesionales realizadas en el Centro de Estudios para el Cambio en el Campo Mexicano (Ceccam). Participando como investigadora titular en los proyectos “Respuestas a la contaminación transgénica en México” y “El maíz y la soberanía alimentaria en México” efectuados durante el período comprendido entre enero 2003 a diciembre 2007. Bajo la dirección de la Maestra. en Sociología Ana De Ita Rubio, Directora Ejecutiva del Ceccam.

La revisión del presente reporte estuvo integrada por el siguiente jurado:

El Dr. Daniel Piñero Dalmau, como tutor y como Sinodales: la Dra. Elena Álvarez-Buylla Roces, la Dra. Alejandra Vázquez-Lobo Yurén, la M. en C. Ana Laura Wegier Briuolo y la Biol. Alma Amparo Piñeyro Nelson.

PERFIL DE LA INSTITUCIÓN

Antecedentes

El Centro de Estudios para el Cambio en el Campo Mexicano (Ceccam) es una asociación civil, sin fines de lucro que, se concibe como un *think-tank* de las organizaciones campesinas. Es decir, un centro de investigación que propone y discute ideas de interés para los campesinos, e influye en las políticas públicas, dirigidas al sector rural. El Ceccam surgió como respuesta a la necesidad de contar con un centro especializado en los problemas del campo desde la perspectiva campesina. Así, el Ceccam es un punto de enlace, intercambio de experiencias e investigación, al servicio de las organizaciones campesinas de México y otros países.

Desde 1992, año de su formación, el Centro ha generado materiales de reflexión y análisis y ha propiciado encuentros y seminarios —nacionales e internacionales— en los que especialistas, representantes de organizaciones campesinas y estudiosos, reúnen su experiencia. Propicia la producción intelectual colectiva y el enlace de acciones, buscando producir planteamientos y estrategias para el sector rural.

Esta conformado por una red de personas con respaldo organizacional o trabajo de acompañamiento. Entre sus miembros se encuentran dirigentes de organizaciones de base, asesores e investigadores rurales, consultores de fundaciones internacionales, miembros de organismos no gubernamentales, periodistas. Se relaciona con organizaciones de productores y campesinas, grupos de apoyo al desarrollo rural, instituciones y centros de investigación y espacios de difusión y educativos.

Principales líneas de trabajo

1. Política agrícola y libre comercio, sus impactos en la economía y organización campesina y en la soberanía alimentaria
2. **Cultivos genéticamente modificados**
3. Derechos de los pueblos indios y autonomía
4. Tierra, territorio, agua y biodiversidad.

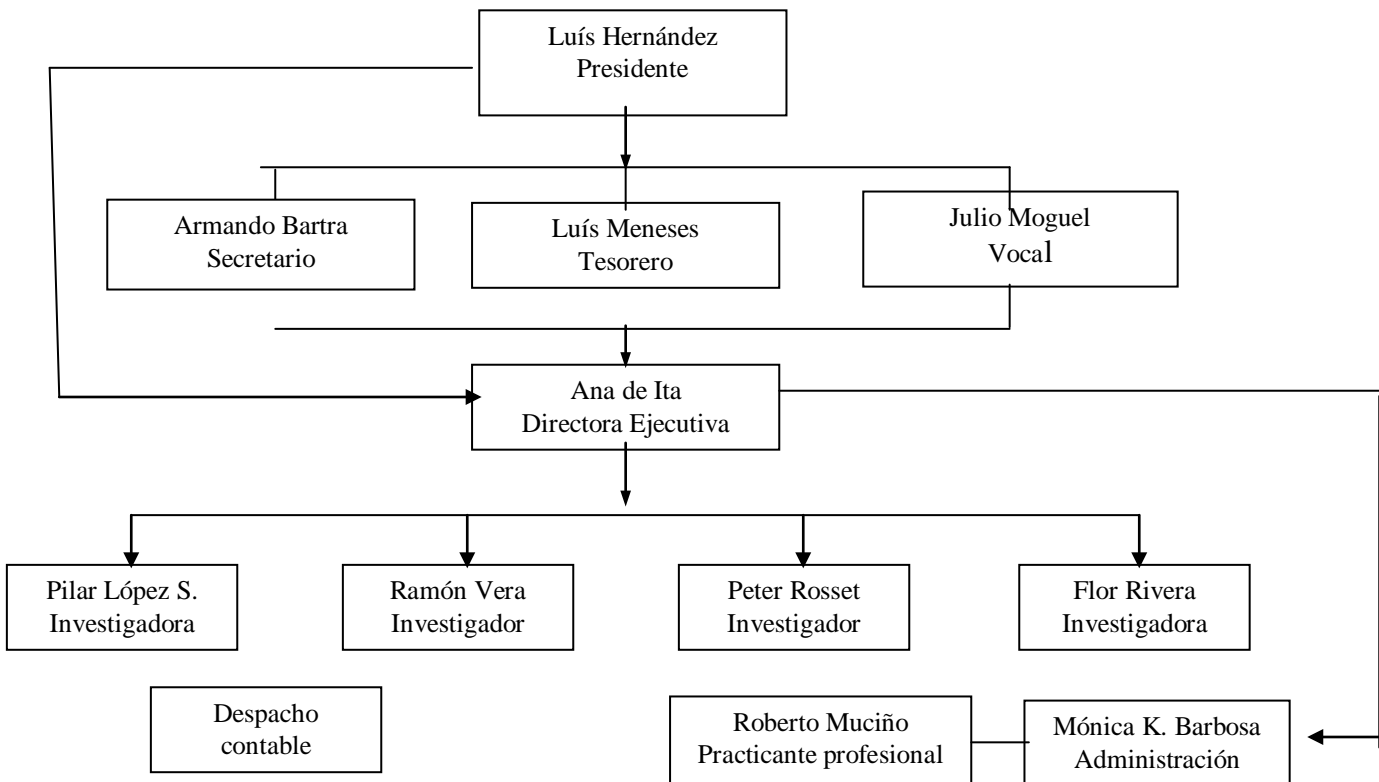
5. Movimientos sociales campesinos e indígenas

El Ceccam trabaja con base en la investigación participativa , de ahí que la totalidad de sus proyectos tienen los siguientes componentes:

- 1. Investigación documental y estadística:** Que proporciona un sustento teórico sólido y permite conocer el estado de la discusión académica y política para ser traducida y difundida entre las organizaciones campesinas e indígenas.
- 2. Investigación de campo en distintas regiones de México:** Con diferentes organizaciones campesinas e indígenas; con instituciones de gobierno, del poder ejecutivo y legislativo; con otros agentes —empresarios, comercializadoras, centros de investigación empresas transnacionales, etcétera
- 3. Educación pública:** apoyados en los resultados de la investigación documental y de campo el Ceccam organiza o participa en distintos seminarios, conferencias públicas, talleres, campañas, principalmente dirigidos a organizaciones campesinas e indígenas, con el fin de dar a conocer información y recibir retroalimentación de los actores directos.
- 4. Construcción de opinión pública:** los materiales resultantes de las investigaciones de campo y documentales, y de los foros y seminarios buscan ser ampliamente difundidas en la opinión pública a través de medios impresos (prensa nacional, revistas especializadas, publicaciones propias, folletos, periódicos murales), electrónicos (listas de discusión y página Web), así como de la asistencia a foros, talleres, seminarios y conferencias.

Organigrama

El Consejo de Dirección define los programas y líneas de acción del Centro, aprueba los proyectos y actividades, las fuentes financieras, los presupuestos y da seguimiento al cumplimiento de metas y al ejercicio del presupuesto. La dirección ejecutiva guía el trabajo, para que los proyectos se lleven a cabo con el éxito deseado. Así los investigadores, como lo muestra el organigrama, debemos reportar cotidianamente nuestro trabajo a la directora ejecutiva, quien monitorea los resultados de investigación y la dirige.



ÍNDICE

	Página
Introducción	8
Descripción de la Actividad Realizada	13
Evaluación Crítica	25
Bibliografía	26

CONTENIDO DEL INFORME

INTRODUCCIÓN

México es considerado uno de los centros de origen y diversidad del maíz junto con Centroamérica, ya que tiene el mayor número de parientes silvestres en su territorio y una gran riqueza genética del cultivo. La conservación de la biodiversidad agrícola presente en los centros de origen, es considerada fundamental para poder enfrentar cambios impredecibles en el medio ambiente, o catastrofes que pongan en peligro la permanencia del cultivo en otros países nooriginarios que dependen del cultivo para su seguridad alimentaria. (http://www.fao.org/spanish/newsroom/action/pdf/ag_treaty.pdf)

El maíz , junto con el arroz y el trigo es uno de los 3 cultivos mas importantes en el mundo (www.fao.org) y el principal cultivo en México en superficie sembrada, producción y número de productores que se dedican al cultivo (De Ita, 2008) y el consumo per capita de maíz por día es de 125 kg (<http://faostat.fao.org>)

El nacimiento de los pueblos mesoamericanos está íntimamente ligado al surgimiento de la agricultura y el cultivo de maíz, que permitieron el establecimiento y desarrollo de la civilización mesoamericana. Los mitos de creación mayas nos muestran como Hun Nal Ye, el dios del maíz, es el creador de la humanidad. El dios del maíz es representado en distintas formas y nombres en las distintas civilizaciones prehispánicas, pero todas nos muestran como la civilización mesoamericana tiene su origen en el maíz. (Florescano y Velásquez, 1995), El valor sagrado maíz como algo sagrado continúa vigente en los pueblos indígenas de México , cuyos mitos de creación han sufrido adaptaciones a la vida contemporánea pero de manera constante el maíz es el creador y es considerado: padre , madre e hijo (Salgado, 2004)

Considerando que desde 1996 se aceptaría la liberación comercial del maíz genéticamente modificado (GM) en Estados Unidos y los riesgos de flujo génico entre variedades GM, y variedades criollas y parientes silvestres que pudiera afectar la biodiversidad agrícola y riqueza genética del cultivo (Ellstrand, 1996); científicos especialistas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y el Comité Nacional de Bioseguridad Agrícola (CNBA) se reunieron en el Foro: *Flujo génico entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones*

para el maíz transgénico. En este foro se discutieron y evaluaron los impactos que traería para las variedades silvestres de maíz o teocintle, la presencia de maíz transgénico en su centro de Origen. Fruto de estas consideraciones se decidió recomendar a la Comisión Nacional de Bioseguridad el declarar una moratoria *de facto* a la siembra tanto comercial como experimental de maíz transgénico en México, misma que fue decretada en 1999 (Aquino et al, 2001, Serratos et al, 1996).

A pesar de la moratoria, en 2001 los investigadores David Quist e Ignacio Chapela reportaron la presencia de transgenes provenientes de variedades de maíz genéticamente modificado (GM) en variedades nativas de maíz de la Sierra Juárez en Oaxaca (Quist y Chapela,2001). Posteriormente, estos resultados fueron corroborados por un estudio encabezado por parte de INE- CONABIO en 2002 (Ezcurra et al, 2002). Si bien el estudio de Quist y Chapela fue criticado al punto que finalmente fue rechazado por la revista que lo publicó (Nature), éste provocó una gran inquietud en los distintos sectores de la sociedad mexicana.

En enero 2002, Ceccam junto con otras organizaciones sociales, campesinas e indígenas, convocó al primer Seminario en Defensa del Maíz, al que asistieron más de 300 personas, en su mayoría representantes de comunidades indígenas y organizaciones campesinas, pero también académicos, organizaciones sociales, ambientalistas, religiosos, estudiantes y representantes de instituciones de gobierno. Durante el seminario se analizaron y discutieron las implicaciones de los resultados obtenidos en los estudios de Quist y Chapela y reportados por Ezcurra et al que señalaban la presencia de transgenes en variedades nativas de maíz de la Sierra Juárez de Oaxaca y cuyo origen, según comentarios de Ellely Huerta representante de INE-CONABIO en el seminario, podría deberse principalmente a las importaciones provenientes de Estados Unidos. La principal preocupación que surgió por parte de los campesinos e indígenas, fué el saber si las variedades de maíz cultivadas en sus parcelas, comunidades y/o regiones se encontraban en la misma situación que las de la Sierra Juárez de Oaxaca, donde había ocurrido flujo génico entre variedades transgénicas y sus variedades nativas o tradicionales.

El Ceccam decide atender la demanda de los campesinos, y buscar los recursos para realizar un biomonitoreo participativo de las milpas tradicionales. En este tipo de estudio las comunidades campesinas e indígenas se involucran en todas las etapas donde sea factible su participación.

Dado este sistema, las comunidades y parcelas a ser muestreadas y analizadas se seleccionaron colectivamente.

Un criterio importante de selección fuera que las comunidades a muestrear conservaran sus propias semillas nativas y que se encontraran alejadas de centros urbanos. Dicho criterio se basó en el supuesto de que en las comunidades donde se hiciera uso de semillas de origen externo y estuvieran cerca de centros urbanos, la posibilidad de ocurrencia de flujo génico entre variedades de maíz GM y sus contrapartes no transgénicas, sería mayor. Es decir, Las variedades híbridas o convencionales han sido la base para la creación de variedades transgénicas, por lo que no pueden diferenciarse físicamente de las variedades transgénicas comerciales. Esto impide al campesino identificar visualmente las variedades transgénicas que pueden entrar mezcladas con las variedades convencionales en las importaciones provenientes Estados Unidos. En algunos casos debido a experimentación campesina o insuficiencia de semilla, los granos de maíz importado destinados al consumo pueden ser utilizados para la siembra convirtiéndose en fuente de transgenes. Esto sucede con menor frecuencia en las comunidades que seleccionan, conservan y resiembran su propia semilla.

Para la realización del biomonitorio participativo fue necesario investigar diferentes métodos de detección de OGMs. Existen desde los fisiológicos como aplicar herbicida en alguna región de la planta –comúnmente una hoja- con el fin de determinar si la planta tratada es resistente o susceptible al agroquímico mediante el análisis de necrosis localizada. En el mismo tenor, se pueden colocar larvas de ciertas especies de insectos en plantas con el fin de observar si dichas larvas mueren después de consumir la planta –aduciendo que entonces dicha planta produce una toxina, como una proteína Cry recombinante, o no son afectadas, en cuyo caso, la planta no es transgénica. Con excepción de estos métodos y la espectroscopia de infrarrojo; las técnicas de detección de OGMs, ya sean cualitativas o cuantitativas, pueden ser clasificadas en dos principales grupos: aquellas basadas en la detección de la secuencia exógena en el ADN: Southern Blot, PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, por sus siglas en inglés) cualitativo(punto final), PCR cuantitativo en tiempo real; y las técnicas basadas en la detección de proteínas recombinantes: Western blot, ELISAs: tanto en tiras de flujo lateral como en placa, así como otros tipos de inmunoensayos (Fantozzi et al 2007, Ahmed, 2002). Cada uno de los métodos tienen sus limitaciones y bondades en relación a la calidad y nivel de detección,

dificultad o capacitación técnica necesaria para su realización y su costo. (Ahmed, 2002; Piñeyro-Nelson, 2007). A continuación se describen las características de los dos métodos más utilizados para la detección de organismos genéticamente modificados en plantas y alimentos.

1) La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): en su versión cualitativa, permite determinar la presencia o ausencia de secuencias genéticas que se han introducido en el OGM, por medio de la amplificación de las mismas mediante el uso de cebadores complementarios y una taq polimerasa que permite la transcripción local. Algunas de las secuencias exógenas más analizadas son los promotores y/o terminadores. Esto se debe a que en la transformación genética de plantas, en especial del maíz, los promotores y terminadores más utilizados son: el promotor 35S (CaMV) del virus del mosaico de la coliflor y el terminador de la transcripción de la Nopalina Sintetasa (tNOS). (Piñeyro-Nelson, 2007). Este método es el más utilizado en los protocolos de detección de OGMs por su alta sensibilidad y la posibilidad de convertirse en cuantitativo, es decir, determinar la cantidad de copias presentes de una secuencia particular en el DNA del organismo analizado. Sin embargo, requiere de cierta sofisticación técnica, y su costo va de medio a alto. (Van den Bulcke al. 2007)

2) La técnica ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), es un inmunoensayo que nos puede dar datos cualitativos y cuantitativos sobre la presencia de proteínas recombinantes específicas. La proteína de interés (antígeno) es reconocida y “atrapada” entre dos anticuerpos específicos: el captador y el detector. El captador, como su nombre lo indica, se encargará de reconocer y capturar a la proteína antígeno. El detector, se pegará al antígeno previamente capturado realizando un efecto tipo “sandwich”. Adicionalmente, el detector se encuentra unido a una enzima que, en caso de presencia de la proteína específica, le confiere la capacidad de expresar coloración, en un sustrato determinado. (Ahmed, 2002). Con este método tenemos un resultado cualitativo que puede ser asignado a simple vista, sobre presencia o ausencia de una proteína recombinante. Este ensayo se puede hacer cuantitativo si se mide la densidad óptica de una muestra dada, ya que está directamente correlacionada con la concentración de la proteína recombinante. A diferencia del PCR, este método no requiere capacidades técnicas muy sofisticadas (Van den Bulcke, 2007), es altamente sensible, relativamente económico y se puede encontrar en distintas presentaciones: microplacas, tiras reactivas o tubos (Ahmed, 2002).

El presente informe describe el trabajo de biomonitoreo participativo de milpas tradicionales realizado durante el período 2003-2007, llevado a cabo mediante inmunoensayos tipo ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, por sus siglas en inglés) con el fin de determinar la presencia de proteínas recombinantes de variedades de maíz transgénico en variedades nativas de maíz

DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD REALIZADA

ANTECEDENTES

Desde 1998, la investigación sobre los cultivos genéticamente modificados (GM) o transgénicos se constituyó como una línea principal del trabajo del Ceccam. Dada la complejidad del tema, y estando el equipo conformado en su mayoría por investigadores sociales, se decidió contratar a un biólogo que pudiera investigar sobre los impactos de la introducción de los cultivos transgénicos, tanto a nivel social como a nivel biológico. A su vez, era necesario que pudiera transmitir los resultados de su investigación en un lenguaje claro y comprensible para un público no especializado sobretodo en las comunidades campesinas e indígenas, grupos de interés de Ceccam.

En el año 2000 fui contratada como investigadora titular y a partir del 2001, como responsable del área de transgénicos. Parte de mi labor fue realizar la investigación documental sobre los posibles efectos del flujo génico entre variedades transgénicas y sus contrapartes no transgénicas, así como llevar a cabo un análisis de la situación actual del maíz mexicano y del debate científico y social entorno a los cultivos GM, tanto en el plano nacional como en el internacional. Esto con el fin de transmitir a las comunidades campesinas e indígenas información veraz por medio de talleres informativos comunitarios y regionales.

A partir del 2003, como parte de los proyectos: “*Respuestas a la contaminación transgénica en México*” y “*El maíz y la soberanía alimentaria en México*” he estado encargada de efectuar el biomonitoreo participativo de la presencia de transgenes en los maíces sembrados en las milpas campesinas e indígenas.

Resumen

La primera estimación de frecuencia de transgenes inició en 2003, en 345 parcelas de 101 comunidades indígenas, en los estados de Chihuahua, Puebla, Veracruz, Jalisco, Hidalgo y Oaxaca. Durante el período de 2003 al 2005, hemos realizado análisis de presencia de proteínas recombinantes en un total de 2530 plantas de maíz nativo en 506 parcelas, de 149 comunidades en 9 estados de la República Mexicana. Adicionalmente en 2005 se analizaron 173 plantas con presencia de algún tipo de malformación en 18 comunidades de los estados de Oaxaca, Chihuahua e Hidalgo, con el fin de determinar si existe una correlación entre la presencia de

transgenes en estas plantas y las aberraciones morfológicas observadas. En el 2006 se analizaron 24 plantas de maíz convencional en 7 parcelas de dos ejidos en Culiacán Sinaloa, así como 134 plantas malformadas en 8 comunidades de los Valles Centrales y Sierra Juárez de Oaxaca.

En 2007 se identificó la presencia de transgenes en 520 plantas de 52 parcelas en 2 comunidades del Istmo de Tehuantepec Oaxaca, con el fin de implementar estrategias piloto de descontaminación y recuperación de semilla nativa libre de OGMS.

En el mismo período Se realizaron 65 talleres informativos regionales y comunitarios con el objetivo de fomentar un proceso informativo y educativo sobre la situación del maíz mexicano, para que las comunidades pudieran tomar sus propias decisiones con información fehaciente y reciente sobre los transgénicos; tanto los beneficios como los posibles riesgos, divulgando las diferentes posturas presentes en nuestro país. Se apoyaron iniciativas de 27 organizaciones campesinas y llegando a capacitar a más de 200 comunidades de los estados de Chihuahua, Sinaloa, Michoacán, Guerrero, Distrito Federal, Puebla, Tlaxcala, Estado de México, Morelos, Hidalgo, Veracruz, Jalisco, Oaxaca, Tabasco y Chiapas. **Figura 1**

Figura 1. Taller regional en Oaxaca

Material y Métodos

Selección del método de detección

Para la realización del biomonitoreo participativo, considerando las capacidades técnicas y económicas con las que se cuentan en el Ceccam, así como la necesidad de determinar no sólo la presencia o ausencia, si no el tipo y frecuencia de eventos transgénicos en el maíz nativo, se optó por realizar inmunoensayos tipo ELISA. Este método de detección de proteínas estaba al alcance de las capacidades económicas y técnicas de la institución, además de arrojar datos precisos sobre el tipo de proteínas recombinantes, variedades que las expresan y compañías productoras.

Los ensayos del biomonitoreo participativo se dirigieron a detectar las proteínas:

- **Bt Cry 1Ab/Ac**, proveniente de un gen presente en la bacteria *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*, y es una toxina letal para larvas de ciertas especies de lepidopteros.

- **CP4 EPSPS** (5-Enol-pyruvilshikimato-3-fosfato sintetasa proveniente de la cepa CP4 de *Agrobacterium* sp.) proteína que le confiere al maíz resistencia al herbicida glifosato.
- **Bt Cry 9c**, también derivada de un gen de la bacteria *Bacillus thuringiensis* pero que por la concentración de tóxina que produce fue considerada no apta para consumo humano.

Estas proteínas se encuentran expresadas en las principales variedades de maíz GM del Mercado.

Ver Tabla 1

Tabla 1. Principales variedades comerciales de maíz transgénico.

Proteína	Evento	Nombre comercial de la variedad	Empresa que la produce
Cry1A (b)	Bt 11	Yieldgard™	Syngenta
Cry1A (b)	Mon 810	Yieldgard™	Monsanto
Cry1A (b)	176	Naturgard™Knockout™	Syngenta
Cry 1Ac	DB418	Bt Xtra™	Monsanto
Cry 9c	CBH351	Starlink™	Bayer (antes Aventis cropscience)
CP4 EPSPS	NK603	Roundup Ready®	Monsanto
Cry1A (b), CP4 EPSPS	NK603 x Mon 810	Roundup Ready® Yieldgard™	Monsanto, Syngenta

<http://bch.cbd.int/database/organisms/>

Diseño de muestreo

Las comunidades decidieron qué parcelas dentro de su comunidad serían analizadas, tomando en consideración al menos 5 parcelas que estuvieran ubicadas en los distintos puntos cardinales y una al centro de la comunidad. El mismo criterio fue utilizado dentro de las parcelas, donde se colectaron hojas de cinco plantas de entre 6 y 8 semanas de edad, tiempo de crecimiento idóneo para la detección de proteínas (Serratos, coms pers.); ubicadas en ; Norte, Sur, Oriente, Poniente y Centro de la parcela. Durante la primera fase del biomonitoreo, llevada a cabo en 2003, también se colectaron muestras en grano, sin embargo tal y como lo señala el estudio de Fearing y colaboradores (1997) así como nuestro primer análisis de laboratorio, la sensibilidad de las pruebas de detección es menor cuando se analizan granos dando falsos negativos como resultado, en contraste con el análisis en hoja. Por esta razón, en las siguientes fases del diagnóstico la colecta de muestras se realizó exclusivamente a partir de tejido foliar.

El muestreo fue la fase más participativa del biomonitoreo, éste siempre se realizó posterior a un taller informativo comunitario, donde además de ofrecer información sobre las amenazas que representa el maíz transgénico hacia el maíz nativo y la situación del maíz tradicional mexicano, se impartió una explicación teórica de cómo hacer el muestreo y las condiciones en las que se debían mantener las muestras colectadas para su conservación. En asamblea se decidieron las parcelas que debían ser muestreadas, aclarando que éstas eran representativas de la comunidad y por lo tanto el trabajo de cuidado, observación y conservación, sería comunitario. Así, el muestreo fue acompañado y realizado por autoridades comunitarias, mujeres, hombres y niños miembros de cada comunidad muestreada. **Ver figuras 2, 3 y 4**

Figura 2. Explicación en parcela

Figura 3. Comuneros participando en el muestreo

Figura 4. Autoridad, con su familia en milpa

En la parcela, se realizó una explicación práctica del muestreo y se aplicó una pequeña encuesta para conocer el origen de la semilla plantada. La encuesta incluía: el nombre del propietario, comunidad, estado y datos sobre el origen y procedencia de la semilla, tipo de semilla, forma de cultivo y participación en programas y ferias de intercambio de semilla. Esta encuesta nos permitió proponer la posible fuente de los transgenes.

Material biológico

Las plantas muestreadas fueron marcadas con una etiqueta impermeable y con plumón indeleble para poder identificar el punto de muestreo y cotejarlo con los resultados del laboratorio. Las hojas fueron envueltas en hojas de papel y rotuladas con la misma marca de la etiqueta puesta en la planta. Posteriormente se colocaron las muestras junto con la encuesta sobre el origen de la semilla sembrada, en una bolsa plástica con cierre hermético dentro de una hielera con refrigerantes, para su transportación en frío hasta el laboratorio. **Figuras 5,6 y 7**

Figura 5. Campesino marcando una hoja colectada y envuelta en papel, bajo el brazo la bolsa hermética donde colocara la muestra, con la encuesta ya contestada. Se está recargando en una marca plástica con la que señala la planta muestreada.

Figura 6. Mujer colocando una marca en planta muestreada

Figura 7. Niño explicando a su compañero como realizar la toma de muestra

Análisis de laboratorio

Las muestras recolectadas fueron analizadas en el laboratorio comercial Fumigaciones y plantas (Fumaplant), ubicado en Xochitepec, Morelos, México. Para el análisis se utilizaron kits ELISA para la detección de las proteínas de origen recombinante, mencionadas en **la Tabla 1**, de las marcas *Agdia* (www.agdia.com) producidas en Elkart, Indiana EEUU y *Envirologyx* (www.envirologyx.com) fabricados en Pórtland, Maine, EEUU.

En 2003, se probaron dos presentaciones de ELISAs existentes en el mercado: microplacas y tiras reactivas, ambas de la marca *Agdia*. Con el fin de conocer los alcances de las tiras reactivas, que pudieran ser utilizadas directamente por los campesinos en sus parcelas. Sin embargo resultaron ser menos sensibles que las microplacas. Al analizar las mismas muestras con ambas presentaciones y con 3 repeticiones; las microplacas dieron resultados positivos de manera constante, mientras que las tiras reactivas dieron falsos negativos, esto se debe a que éstas requieren de una alta concentración de proteína (Serratos, A. Coms Pers, Van den Bulcke al. 2007). Por consiguiente se decidió utilizar únicamente microplacas en los análisis de laboratorio de los siguientes años.

A partir del 2005, para la detección de la proteína Cry 9c, se utilizaron *kits* de la marca (*Envirologyx*), ya que un lote de los *kits* de la marca *Agdia* resulto defectuoso y presentaban falsos positivos (Alvarez-Buylla, Coms Pers, Piñeyro-Nelson, 2007) y fueron descontinuados por la compañía

Bajo acuerdo con el laboratorio Fumaplant, se supervisó que los protocolos proveídos en los kits fueran seguidos con exactitud por el técnico del laboratorio. Las microplacas fueron observadas y fotografiadas, ya que éstas reportan un primer resultado cualitativo por medio de la coloración, y

posteriormente fueron leídas en un lector de placas ELISA marca BioTek, con filtros de 450 y 620 nm para obtener un resultado cuantitativo, al medir la densidad óptica. El Laboratorio Fumaplant consideró para la determinación de positivos, las muestras con lecturas mayores a tres veces la lectura del promedio de los controles negativos y entregó un informe de resultados.

Resultados

Análisis de proteínas

2003-2005

En el período 2003- 2005 se analizaron muestras de 506 parcelas de 149 comunidades, en 11 regiones de los estados de Chihuahua, Puebla, Veracruz, Jalisco, Hidalgo, Oaxaca, Tabasco y Chiapas. La Sierra Huichola en Jalisco, y la Sierra Sur en Veracruz, fueron las únicas regiones que no reportaron resultados positivos a la presencia de proteínas recombinantes expresadas por variedades de OGMs comerciales. Las regiones que reportaron mayor frecuencia de proteínas recombinantes fueron la Sierra Tarahumara de Chihuahua con un 33% de positivos, Istmo de Tehuantepec con presencia del 12.82% y las regiones de Valles Centrales y Sierra Juárez, en el estado de Oaxaca, con 11.92%.

En las regiones en donde se detectó mayor presencia de proteínas recombinantes, descritas en el párrafo anterior, junto con la Sierra Norte de Puebla, presentaron más de un tipo de proteína recombinante por parcela analizada. 18 de las 46 parcelas analizadas presentaron 2 y 3 diferentes tipos de proteína proveniente de maíces genéticamente modificados en la misma parcela, e inclusive dentro de una misma planta. **Ver Tablas 2 y 3**

Tabla No. 2 Presencia de proteínas recombinantes de maíces GM por estado.

Año	No. Comunidades Positivas	% Pos	No. parcelas positivas	% Pos	Estados analizados con presencia de proteínas gm
2003	19/98	19.38	34/345	9.85	Chihuahua(Sierra Tarahumara), Puebla (Sierra Norte),Veracruz(Los Tuxtlas),y Oaxaca (Sierra Juárez, Valles Centrales)
2004	4/30	13.33	6/76	7.89	Hidalgo(Huasteca) y Tabasco (Macuspana),
2005	2/21	9.52	6/85	7.05	Chiapas(Palenque) y Oaxaca (Istmo de Tehuantepec)
Total	25/149	16.77	46/506	9.09	Chih, Pue, Ver, Oax, Tab, Hgo y Oax

Tabla 3. Presencia de proteínas recombinantes de maíces GM, por parcela y tipo de proteína.

Año	No. Parcelas positivas a proteínas recombinantes	%	BtCry 1Ab/Ac	Bt Cry 9c (Starlink)	CP4 EPSPS (RR)	RR y Bt	RR/ Starlink	RR, Bt y Starlink
2003	Chihuahua (Sierra Tarahumara)	11/33	33.33		5	2		4
	Puebla (Sierra Norte)	4/55	7.27					4
	Veracruz (Los Tuxtla)	1/88	1.13		1			
	Jalisco (Sierra Huichola)	0/12	0					
	Hidalgo (Huasteca)	0/6	0					
	Oaxaca (Sierra Juárez y Valles Centrales)	18/151	11.92	3	3	6	2	4
	Subtotal	34/345	9.85					
2004	Hidalgo (Huasteca)	4/22	18.18		4			
	Tabasco (Macuspana)	2/11	18.18		2			
	Veracruz (Sierra Sur)	0/16	0					
	Oaxaca (Mixteca)	0/27	0					
	Subtotal	6/76	7.89					
2005	Chiapas (Palenque)	1/46	2.17		1			
	Oaxaca (Istmo de Tehuantepec)	5/39	12.82		3		2	
	Subtotal	6/85	7.05					
Total	46/506	9.09	3	14	11	2	4	12

La proteína con mayor frecuencia, es la expresada por la variedad Starlink : Cry9c, reportando resultados positivos en 30 parcelas . La proteína CP4 EPSPS, presente en la variedad de maíz transgénico que tiene tolerancia al herbicida glifosato (Roundup Ready ®), fue la segunda proteína con mayor presencia en las parcelas analizadas siendo 29 las que reportaran resultados positivos.

En 2005 se realizó el biomonitoreo en la región de Palenque, Chiapas reportando presencia de la proteína cry 9c en 1 de las 46 parcelas muestradas y la región del Istmo de Tehuantepec donde 5 de 39 parcelas arrojaron resultados positivos a Cry 9c. Ese mismo año, se decidió ir mas allá de conocer la extensión de la contaminación y enfocar los recursos económicos y técnicos con los que se contaban, para investigar posibles consecuencias de la presencia de transgenes en maíces

nativos e implementar estrategias de contención, recuperación y conservación de semillas de maíz nativo libre de transgénicos.

En el año 2005, campesinos indígenas de los Valles Centrales y Mixteca Baja de Oaxaca, de la Huasteca Hidalguense y de la Sierra Tarahumara de Chihuahua, solicitaron al Ceccam analizar plantas con aberraciones morfológicas detectadas dentro de parcelas en dónde el diagnóstico realizado en 2003-2004 había arrojado resultados positivos. En 2005 se analizaron 173 plantas con algún tipo de aberración morfológica descrita como nueva o nunca antes vista por los campesinos, principalmente de los valles centrales de Oaxaca, obteniendo resultados positivos en el 9.83% de las plantas analizadas y detectando principalmente la proteína Cry 9c .. **Ver Tabla 4**

Tabla 4. Presencia de proteínas transgénicas en plantas con deformaciones.

	Región	No. Comunidades positivas	%	No. Plantas Malformadas Positivas	%	Proteínas encontradas por planta
2005	Sierra Tarahumara	1/2	50	3/5	60	1: Cry 9c 2: Cry 9c y CP4 EPSPS
	Huasteca	0/1	0	0/1	0	Ninguna
	Mixteca Alta	0/2	0	0/12	0	Ninguna
	Valles Centrales	8/13	61.53	14/155	9.03	9: Cry 9c 4: CP4 EPSPS 1: Cry 9c y CP4 EPSPS
	Total	9/18	50	17/173	9.83	
2006	Valles Centrales	3/6	50	3/122	2.45	2: Cry 1Ab/Ac 1: CP4 EPSPS
	Sierra Juárez	1/2	50	2/12	16.66	2: CP4 EPSPS
	Total	4/8	50	5/134	3.73	

2006

En 2006, existía la sospecha de siembra ilegal de maíz genéticamente modificado en los campos de Sinaloa, productores medios de la Union de Organizaciones Regionales Campesinas Autónomas (UNORCA), solicitaron al Ceccam, analizar 7 parcelas sembradas con la variedad Pioneer 57 en Culiacán, Sinaloa sin reportar resultados positivos.

En el 2006 se analizaron nuevamente 122 plantas deformes de los Valles Centrales de Oaxaca, de las cuales 2 plantas arrojaron resultados positivos a la proteína Cry 1(Ab)(Ac) y una a la proteína CP4 EPSPS. En la Sierra Juárez de Oaxaca, se encontraron 12 plantas con aberraciones morfológicas reportando 2 plantas la proteína CP4EPSPS, representando un 3.73% de presencia de proteínas recombinantes en 134 plantas analizadas.

2007

En el 2007, los recursos destinados a la realización de diagnósticos se enfocaron en la implementación de una estrategia experimental piloto para la recuperación y conservación de semilla libre de transgenes en 2 comunidades del Istmo de Tehuantepec:

- *El Limón* : Comunidad localizada en la parte baja de la Sierra, que participó en el biomonitoreo del año 2005, obteniendo resultados positivos a la proteína Cry 9c en 3 de las 4 parcelas analizadas. Existe sólo una variedad blanca de híbrido acriollado
- *San Pedro Sosoltepec*: Ubicada en la parte alta de la Sierra. En esta comunidad la mayor parte de sus miembros había perdido la siembra de maíz, algunos de ellos, sólo sembraban maíz en sus solares para guardar un poco de semilla y únicamente los ancianos seguían sembrando la milpa. Después de un taller informativo y de una reflexión conjunta, la comunidad decidió recuperar la siembra de sus milpas e intentar recuperar semilla libre de transgenes

En caso de tener éxito, se puede obtener semilla adaptada a distintas altitudes y climas y puede ser distribuida, al menos en las comunidades cercanas con quienes comparten las mismas variedades.

La estrategia requiere de un análisis de las plantas en una etapa temprana, aproximadamente a la mitad de su crecimiento, para conocer si se encuentran libres o con presencia de transgenes antes de la floración. La estrategia consiste en llevar a cabo una polinización controlada de las plantas que han resultado ser no transgénicas, y obtener semilla de esas plantas. Se prevé que en un período de 3 años se pueda obtener suficiente semilla libre para sembrar la totalidad de las parcelas, permitiendo que ya no se requiera de polinización controlada al ya no haber semilla dudosa en la comunidad. Esta estrategia requiere entonces de la participación de todos los miembros de la comunidad para evitar riesgos de recontaminación, es decir si un comunero

decide no participar, siempre habría semillas y plantas dudosas que pudieran recontaminar a las recuperadas como libres de transgenes.

En la comunidad el Limón se analizaron 260 plantas de 26 parcelas, obteniendo resultados positivos para la proteína Cry 9c en 12 plantas de 7 parcelas. Teniendo así, 248 plantas que podrían dar semilla libre de transgenes. Desafortunadamente todas las plantas seleccionadas y analizadas se perdieron a causa de una fuerte sequía, y no se pudo obtener semilla de ellas. Aunado a la sequía, observamos que muchas parcelas de la comunidad son contiguas a las parcelas de comunidades vecinas y que existe el riesgo de recontaminación por la cercanía de las parcelas donde se pueden sembrar semillas que no estén libres de transgenes. Esto nos llevo a evaluar la viabilidad de la estrategia en la comunidad y se decidió no continuar con la experiencia.

En 2007, en San Pedro Sosoltepec se analizaron 260 plantas de parcelas de 26 comuneros. Se encontró presencia de las proteínas Cry 9c, CP4 EPSPS en 24 plantas de 12 parcelas en la comunidad. Desafortunadamente, los fuertes vientos que azotan la comunidad se llevaron las bolsas que cubrían las floraciones para el control de la polinización, y se obtuvieron únicamente 25 mazorcas libres de OGMs de las 236 plantas que resultaron negativas a la presencia de proteínas recombinantes. Se investigó con fitomejoradores del CIMMYT, las posibilidades de resolver este problema y actualmente se continúa con la experimentación en esta comunidad que a diferencia de *El Limón*, se encuentra aislada de las comunidades vecinas por cerros y cuerpos de agua.

Discusión

En el 2000, se detectó una variedad de maíz Gm, en las tortillas de una cadena de comida rápida de Estados Unidos, este maíz llamado Starlink no es apto para consumo humano, debido a la alta concentración de toxina que produce. Este, fue uno de los casos de flujo transgénico accidental no deseado más divulgado, y que provocó la quiebra de la empresa Aventis Cropscience, al verse obligada a limpiar los campos e indemnizar a los campesinos afectados. (Mc Avoy S y D. Cohen, 2000).

En 2002, Fobomade, una organización civil Boliviana, analizó muestras de la ayuda alimentaria que recibía proveniente de Estados Unidos encontrando resultados positivos para la variedad

Starlink, (los análisis fueron realizados por el laboratorio Genetic ID en EEUU) (http://www.fobomade.org.bo/bioytrans/docs/ayu_002.php)

En algunos casos como en la Sierra Tarahumara, debido a las condiciones climáticas del lugar, la cosecha es insuficiente para el abasto familiar, por lo que reciben ayuda alimentaria anualmente, si bien es costumbre guardar su propia semilla, existen temporadas en las que las condiciones climáticas mejoran y resulta insuficiente la semilla guardada y por consiguiente siembran un poco de la ayuda alimentaria que reciben como grano. Lo que podría explicar que la proteína con mayor presencia en las muestras analizadas en el biomonitoreo realizado en 2003-2007 sea Cry 9c expresada por la variedad Starlink

Sin embargo este resultado se podría deber a falsos positivos arrojados por las placas marca Agdia, utilizadas en 2003 y 2004. No obstante, al menos en el caso de los Valles Centrales de Oaxaca e Istmo de Tehuantepec, se realizaron análisis posteriores al 2005, con Kits de la marca *Envirologyx* en algunas parcelas diagnosticadas en 2003, con Kits *Agdia*, obteniendo resultados positivos a la proteína Cry 9c. Por esto, podemos afirmar que existe presencia de esta proteína en esas regiones de Oaxaca, aun cuando harían falta más pruebas moleculares que corroboraran y en su caso corrigieran, las frecuencias estimadas en este estudio.

El resultado obtenido de la presencia de la proteína CP4 EPSPS como segundo en frecuencia detectada, representa un resultado esperado, considerando que esta variedad en el 2002, ocupaba la mayor parte de la superficie plantada con maíz genéticamente modificado en Estados Unidos (James, C, 2002).

En el 2002 ,aproximadamente el 25 % de la superficie sembrada con maíz en Estados Unidos estaba sembrada con maíz GM. Principalmente con las variedades modificadas para adquirir tolerancia a herbicida, resistencia a insectos o ambos caracteres, variedades que siguen siendo las principales hasta el día de hoy. (www.isaaa.org).

Para el 2002 se importaban entre 6 millones de toneladas anuales provenientes de Estados Unidos, (De Ita, A. 2008), principal productor de transgénicos en el mundo representando el 68% de la superficie sembrada con cultivos genéticamente modificados en el mundo (James, C. 2003) aproximadamente el 10% de esas importaciones eran distribuidas por Diconsa (De Ita A. 2003). En el estudio realizado por INE-CONABIO (Ezcurra et al, 2002), el almacén Diconsa de

Ixtlan de Juárez, presentó el 37% de resultados positivos a la presencia de elementos transgénicos. Lo que nos llevaría a coincidir con Ellely Huerta en considerar como principal fuente de transgenes, las importaciones de maíz de Estados Unidos. Sin embargo, los resultados obtenidos nos ofrecen un panorama que sugiere que el flujo de transgenes hacia las variedades nativas de México se encuentra ampliamente extendido y no puede ser explicado principalmente por la siembra accidental o por desconocimiento, de maíz importado proveniente de Estados Unidos, destinado para consumo. Existen otros factores como el intercambio de semillas entre migrantes y sus parientes que se quedan en la comunidad, que pudieron ser fuente de flujo de transgenes y el intercambio tradicional de semillas entre los agricultores no migrantes y que funcionarían como diseminadores involuntarios de la contaminación. Así como el escape accidental de experimentos con maíz transgénico anteriores a la moratoria. No obstante aún con una combinatoria de estos factores es difícil explicar la extensión de la presencia de proteínas recombinantes en variedades nativas de maíz, encontradas en el presente estudio por lo que sugiere otra fuente que pueda ser constante y extensiva, como variedades híbridas que puedan resultar contaminadas.

EVALUACIÓN CRÍTICA

El biomonitoreo participativo realizado por el Ceccam, constituye el segundo esfuerzo de detección más extensivo en el país y el único con participación activa de campesinos e indígenas (Mercer, Waingwright, 2008). Si bien hubiera sido altamente recomendable, corroborar los datos obtenidos en las pruebas de ELISA mediante pruebas moleculares basadas en DNA, como la PCR, así como aumentar el número de muestras a analizar por parcela y comunidad, con el fin de que el estudio reportado aquí tuviera mayor representatividad estadística. El estudio se une a otros estudios realizados en México que también reportan resultados positivos a la presencia de OGMs (Mercer Waingwright, 2008). Esto nos permite tener mayor certeza sobre los resultados del diagnóstico

El trabajo realizado en el Ceccam ha contribuido de manera importante en mi formación como bióloga, al haber realizado investigación documental y análisis de laboratorio sobre los impactos de cultivos genéticamente modificados, en la conservación de variedades nativas. Sin embargo considero que la mayor contribución de este trabajo para mi desarrollo profesional y personal, es haberme dado la posibilidad de vincular la ciencia con las necesidades de un sector importante de la sociedad. Considero que mi trabajo contribuyó a cumplir los objetivos de la institución, que son: la investigación, educación pública y apoyo a procesos organizativos en comunidades campesinas e indígenas, al haber acompañado durante este período un proceso amplio en defensa del maíz.

BIBLIOGRAFÍA

Aquino P, F Carrion , R Calvo ., D Flores , (2001) Selected Maize Statistics. En: CIMMYT 1999-2000 World Maize Facts and Trends, Meeting World Maize Needs: Technological Opportunities and Priorities for the Public Sector (ed. Pingali PL.) pp 45-516.

Quist, D e I. Chapela (2001) Transgenic DNA introgressed into tradicional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature*. 414: 541-543.

Ezcurra E, Ortiz S, Soberon, J (2002) Evidence of Gene Flow from Transgenic Maize to Local Varieties in Mexico. In: LMO and the Environment: Proceedings of an Internacional Conference. OECD, pp 289-295.

Ahmed, F.E. (2002). Detection of Genetically Modified Organisms in foods. *Trends in Biotechnology*. Vol. 20 5: 215-223

Fearing, P, D. Brown, D. Vlachos, M. Meghji, L. Privalle (1997). Quantitative Análisis of CryIA(b) Expresión in *Bt* Maize Plants, Tissues and Silabes and Stability of Expresión Over Succesive Generations. *Molecular Breeding* 3: 169-176.

Van den Bulcke M, A. De Schrijver, D. De Bernardi, Y, Devos, G. Mbongo Mbella, A. Leunda Casi, W. Monees, M. Sneyers. (2007). Detection of Genetically Modified Plant Products by Protein Strip Testing: An Evaluation of Real-life Simples. *Eur Food Res Tecnnol*. 225:49-57

De Ita A. (2008). Catorce Años de TLCAN y la Crisis de la Tortilla. En: *Combatiendo los TLCs: La creciente resistencia a los tratados de libre comercio y los acuerdos bilaterales de inversion. BIOTHAI-GRAIN*. 73-80

James, C. (2003). Global Review of Commercialized Transgenic Crops: 2002 Feature: Bt Maize. En : www.isaaa.org

Mercer, K y J. Wainwright. (2008). Gene Flow from Transgenic Maize to Landraaces in México: An Analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 123: 109-115.

Serratos, J.A., M.C. Willcox y F. Castillo (eds). 1996. Flujo génico entre maíz criollo, maíz mejorado y teocintle: implicaciones para el maíz transgénico. México, D.F. CIMMYT.

Salgado A, (ed). 2003. El maíz en la vida de los Pueblos: Sus amenazas y riesgos, desde la sabiduría indígena y el saber campesino, México, DF. Cenami

Piñeyro-Nelson, A. (2007). Restricciones Analíticas de las Técnicas de Biomonitorio de Organismos Genéticamente Modificados de Uso Agrícola: Estudio de Caso de Muestras de Maíz Procedentes de la Sierra Juárez de Oaxaca. Facultad de Ciencias, UNAM.

Mc Avoy, S, D, Cohen. 2000. Boletín de Prensa No. 0345.00. en: www.usda.gov

Programa del Maíz del CIMMYT.2004. Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Cuarta edición.México D.F. CIMMYT