



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

Aplicación de glifosato como herramienta para la detección de resistencia transgénica en colectas de maíz nativo

T E S I S

Que para obtener el título de:

Ingeniero Agrícola

Presenta:

Selene Mariana Sánchez Mendoza



Asesor: Dr. Alejandro Espinosa Calderón

Coasesora: M.C. Margarita Tadeo Robledo

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

2011



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U. N. C.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

**DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Aplicación de glifosato como herramienta para la detección de resistencia
transgénica en colectas de maíz nativo

Que presenta la pasante Selene Mariana Sánchez Mendoza

Con número de cuenta: 099004558 para obtener el título de:
Ingeniera Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlan Izcalli, Mex. a 14 de Junio de 2011.

PRESIDENTE M.C. María Del Yazmín Cuervo Usán

VOCAL M.E. José Leonides Sánchez González

SECRETARIO Dr. Alejandro Espinosa Calderón

1er SUPLENTE Ing. Arturo Leodegario Ortiz Comejo

2º SUPLENTE Dr. Jesús Abraham Méndez Albores

Patria: tu superficie es el maíz...

Ramón López Velarde

A todos los que no han sido tan afortunados como yo, y con el compromiso de todos los días tomar decisiones encaminadas al mejoramiento de sus condiciones de vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por el amor y apoyo incondicional en todo lo que he querido emprender, es recíproco.

A mamá Chayo, papá Raúl, Sally y Maggie por aceptarme como miembro de su familia, acompañarme y apoyarme desde que me acuerdo.

A Carlitos por ser un gran motivo de amor desde que nació.

A mis entrañables amigos Abril, Mariana, Rogelio y Julio, por acompañarme en todo desde hace mucho tiempo.

A mis compañeros y amigos de la carrera de Ingeniería agrícola por enseñarme muchas cosas (buenas y malas), en especial a Mazga, Paco, Víctor y Viry por estar especialmente cerca.

A la UNAM por haber sido mi Institución educativa desde los doce años y por conservar su carácter público y autónomo.

A la FES Cuautitlán, por todo el aprendizaje brindado, sobre todo fuera de las aulas.

Al Dr. Alejandro Espinosa y a la Maestra Margarita Tadeo por permitirme participar en este proyecto y por el tiempo dedicado a mi titulación.

Al proyecto PAPIIT IN205908-3 por el financiamiento para la realización de este trabajo.

Al equipo de semillas por la ayuda operativa brindada en este trabajo. Gracias a Viry, Bety, Fátima, Enrique, Demetrio, Isra y Aníbal, que aunque no es del equipo, ayudó bastante.

Un agradecimiento muy especial a Víctor por siempre estar al pendiente del trabajo y sobre todo de mí. Mi cariño y recuerdos, siempre.

Al Dr. Noel Gómez Montiel, Investigador del Programa de Maíz del INIFAP, por la donación de las numerosas colectas del estado de Guerrero.

A Aleira Lara, por proporcionar el material correspondiente a Chihuahua.

A la Dra. Alejandra Mora Avilés, adscrita al Laboratorio de Biotecnología de plantas del Campo Experimental Bajío del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por la realización de la PCR punto final y por decirme sí cuando todo el aparato gubernamental me había dicho no.

A los miembros del Jurado por el apoyo y las aportaciones hechas al trabajo.

A la Maestra Gloria Zita por proporcionarme el glifosato y por estar dispuesta a dialogar, mi agradecimiento y amistad.

Al Profesor Marcos Espadas por su cariño, apoyo y confianza

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.2 HIPÓTESIS	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Maíz	4
2.1.1 Importancia	4
2.1.2 Origen	6
2.1.3 Clasificación taxonómica	9
2.1.4 Descripción botánica	10
2.1.5 Biología reproductiva	11
2.1.6 Diversidad	12
2.1.7 Métodos de mejoramiento genético	18
2.2 Biotecnología (algunas consideraciones)	19
2.2.1 Definición	19
2.2.2 Biotecnología moderna e Ingeniería Genética	19
2.3 Tolerancia y resistencia de plantas a herbicidas	20
2.4 Organismos genéticamente modificados: cultivos transgénicos	21
2.4.1 Generalidades	21
2.4.2 Métodos de obtención de vegetales transgénicos	22
2.4.3 Principales cultivos transgénicos comercializados	25
2.5 Cultivos transgénicos resistentes a herbicidas (CRH)	27
2.5.1 Preocupaciones en torno a los CRH's	28
2.5.2 Cultivos resistentes a glifosato	29
2.5.2.1 Generalidades del herbicida glifosato	29

2.5.2.2 Resistencia de malezas a glifosato	31
2.6 Maíz genéticamente modificado (transgénico) en México	32
2.6.1 Presencia de maíz transgénico en México	32
2.6.2 Eventos transgénicos aprobados en México	35
2.6.3 Solicitudes de permiso para liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado	36
2.6.4 Permisos de liberación al ambiente de maíz GM del año 2010	36
III. MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1 Ensayo a cielo abierto	46
3.1.1 Material genético evaluado a cielo abierto	48
3.1.2 Localización del experimento	48
3.1.3 Descripción climática de la localidad	48
3.1.4 Preparación de ensayo a cielo abierto	48
3.1.5 Siembra	49
3.1.6 Aplicación de atrazina	49
3.1.7 Preparación de la mezcla de herbicida glifosato	50
3.1.8 Aplicación del herbicida glifosato	50
3.1.9 Segunda aplicación de glifosato	51
3.1.10 Observación de los síntomas presentados a los 7 y 15 días después de cada aplicación	
3.1.11 Parámetros evaluados	52
3.2 Ensayo en invernadero	52
3.2.1 Localización del experimento	52
3.2.2 Descripción climática de la localidad	53
3.2.3 Material genético evaluado en invernadero	53
3.2.4 Preparación del ensayo en invernadero	53
3.2.5 Siembra	53

3.2.6 Aplicación del herbicida glifosato	54
3.2.7 Parámetros evaluados	55
3.3 Verificación de la presencia de transgénicos	55
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
4.1 Resultados del ensayo a cielo abierto	57
4.2 Resultados del ensayo en invernadero	58
4.3 Prueba de detección del promotor 35 S por medio de PCR punto final	61
V. CONCLUSIONES	64
VI. BIBLIOGRAFÍA	65

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Tabla 1. Principales países productores de maíz en el mundo	4
Tabla 2. Principales estados productores de maíz en México	6
Tabla 3. Características conferidas a vegetales transgénicos	22
Tabla 4. Superficie de Organismos Genéticamente Modificados sembrada por país	26
Tabla 5. Malezas que han desarrollado resistencia a glifosato	32
Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que implican resistencia glifosato	37
Tabla 7. Material vegetativo utilizado en el ensayo a cielo abierto	47
Tabla 8. Material vegetativo utilizado en el ensayo en invernadero	52
Tabla 9. Plantas establecidas en invernadero antes de la primera aplicación	59
Tabla 10. Frecuencias de sobrevivencia de materiales evaluados en invernadero	60
Figura 1. Área global de cultivos transgénicos por rasgo (Millones de hectáreas)	27
Figura 2. Siembra cielo abierto	49
Figura 3. Primera aplicación de glifosato en el ensayo a cielo abierto y panorámica de la parcela al momento de la aplicación	51
Figura 4. Detalle de siembra en cama de invernadero	54
Figura 5. Síntomas de toxicidad en plantas de maíz 8 días después de la 1era. Aplicación; panorámica de la parcela 8 días después de la 1era. Aplicación y; panorámica de la parcela 15 días después de la 2da. aplicación, se observa la necrosis total de las plantas.	57
Figura 6. Surco de plantas del material “no identificado” proveniente de Sonora sin daño 15 días después de la segunda. aplicación	60
Figura 7. Amplificación por PCR Punto final de muestra de maíz	62

RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo del cual se cosechan los mayores volúmenes de grano a nivel mundial (760 millones de toneladas). En México, la superficie de siembra excede los 8.5 millones de ha, siendo el cultivo más importante económica, social y culturalmente. México es el centro de origen, por lo que todo el territorio debe ser sitio de resguardo y protección de la diversidad de variedades nativas. En el año 2009 se levantó la moratoria que prohibía la siembra de maíz transgénico en el país, ya que se otorgaron permisos para la siembra experimental. Las grandes cantidades de “grano” que se importan de Estados Unidos, podrían representar una forma de contaminación de maíces mexicanos con transgenes. Un porcentaje mayor al 50% de los vegetales transgénicos desarrollados expresan resistencia a herbicidas, uno de los más comunes es el glifosato, un herbicida de amplio espectro muy utilizado en los sistemas agrícolas de México. El presente trabajo tuvo como objetivo definir si la aplicación de glifosato podría utilizarse como herramienta para la detección de resistencia transgénica en maíz. Se estableció un ensayo en campo, en Santa Lucía de Pias, México, con 504 materiales: 479 variedades nativas del Estado de Guerrero; 31 híbridos comerciales. Cada uno de los materiales se estableció en tres repeticiones, la parcela se constituyó de 100 semillas. Se realizaron dos aplicaciones de glifosato en la dosis comercial (3 l/ha cada una), la primera aplicación en la etapa V4 (4 hojas desarrolladas); y la segunda 15 días después de la primera aplicación. Se observó el comportamiento de las plantas después de cada aplicación. La tasa de susceptibilidad de los materiales fue completa. Posteriormente en invernadero se establecieron 7 materiales provenientes de colectas de los estados de Chihuahua y Sonora, donde se intuía que alguno podría ser transgénico, solamente se registró supervivencia en uno de los materiales evaluados, éste se analizó por medio de PCR buscando el promotor 35S del virus del mosaico del tabaco, presente en más del 95% de los eventos transgénicos. Los resultados comprobaron que el material analizado contenía dicho promotor, por lo que se puede inferir que contiene un evento transgénico que le confiere resistencia a glifosato. Se concluye que El material “no identificado” proveniente del estado de Sonora exhibió en invernadero resistencia de las plantas ante dos aplicaciones de glifosato, lo anterior expresado en la sobrevivencia de las plantas, por lo cual se infiere que este material porta el transgen de resistencia a este herbicida. Al analizar el material “no identificado” proveniente del estado de Sonora, para definir la presencia del promotor 35S, que relaciona con los eventos transgénicos a nivel mundial, se confirmó la presencia de este promotor. La aplicación de glifosato como metodología

de detección de resistencia a glifosato en maíz es una alternativa que operativamente presenta la facilidad de evaluar gran número de semillas y muestras, en forma rápida y sencilla, a bajo costo, comparativamente con respecto a efectuar el análisis por PCR de las diferentes semillas. En caso que los agricultores quisieran conocer si la semilla que siembran en su parcela posee transgénicos, la aplicación de glifosato a una muestra de la semilla, previa a la siembra, definiría la presencia ó ausencia de transgénicos.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo de mayor volumen de cosecha a nivel mundial, desde la antigüedad ha constituido la base de la alimentación de los pueblos mesoamericanos, está presente en la elaboración de más de 4 mil productos, tales como, almidón, fructuosa, aceites, cartón, chocolates, biocombustibles, sin embargo, a nivel mundial su uso más importante lo constituye el destinado a la alimentación animal (Turrent y Serratos, 2004; CEFP, 2007). En México, la importancia del maíz no se agota en consideraciones económicas o alimenticias, sino que constituye un elemento identitario nacional alrededor del cual se erigieron grandes civilizaciones.

Hasta principios de los años noventa, el agro mexicano aportaba la mayor parte del consumo nacional aparente de maíz, principal grano básico nacional. Sin embargo, en los últimos veinte años, la producción ha sido rebasada por el creciente consumo nacional aparente, lo cual ha provocado una dependencia igualmente creciente, que en el periodo 2001-2006 fue del orden de 28% de dicho consumo (CEDRSSA, 2007). Las importaciones de este grano para satisfacer el déficit han provenido en su mayor parte de Estados Unidos, país que liberó el cultivo comercial de maíz transgénico en 1996 y que exporta la mezcla de grano transgénico y maíz común.

México, según la hipótesis más ampliamente aceptada (Matsuoka *et al.*, 2002), es considerado centro de origen del maíz y territorio de máxima diversidad genética. Esta característica, propia de nuestro país, hace profundamente preocupante la interacción genética entre las más de 59 razas nativas de maíz y los maíces genéticamente modificados.

Hasta antes del 2003, cuando México ratificó el Protocolo de Cartagena con lo que se comprometió a regular sus importaciones de este grano, una parte del grano importado fue internado consistentemente por medio de instituciones públicas nacionales a regiones de pobreza extrema, propiciando de manera inadvertida la interacción genética entre el maíz transgénico y el maíz nativo, en algunos estados del país, tales como Oaxaca y Veracruz (Quist y Chapela, 2001; Serratos *et al.*, 2007; Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009; Dyer *et al.*, 2009). Es en el año 2001 cuando se dan a conocer a la comunidad científica el primer reporte de detección de transgenes en variedades nativas de la Sierra Juárez en Oaxaca (Quist y Chapela, 2001). A partir de este estudio se han generado por lo menos

una decena de trabajos diferentes centrados en comprobar el hecho denunciado en 2001 en el Estado de Oaxaca e indagar si se encuentra presente en otras áreas del país.

Sin embargo, en respuesta a la publicación de estos polémicos datos en 2001, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), impuso una moratoria *de facto* al cultivo de maíz transgénico a campo abierto (Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados, 2005 y Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, 2008). Esta moratoria fue sostenida hasta marzo del año 2009 cuando las modificaciones hechas a la Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados y a su Reglamento, permitieron la ejecución de la siembra en etapa experimental de materiales transgénicos, considerando tan sólo un apartado que señala que las secretarías de Agricultura y Medio ambiente promoverían la conservación de razas y variedades de maíces nativos y sus parientes silvestres, además de que se impulsaría el desarrollo de laboratorios para detectar y cuantificar el grano contaminado (Reglamento de la Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados, 2009). No obstante la prohibición sostenida, la prensa nacional alertó sobre el cultivo ilegal de maíz transgénico en el Estado de Chihuahua en el ciclo primavera-verano del 2008 (Villalpando, 2007).

Es importante mencionar que se ha documentado que el campo mexicano tiene potencial para producir casi el doble (53 millones de toneladas anuales) del consumo nacional aparente, con tecnología pública y maíz no transgénico (Turrent, 2008). Sin embargo, actualmente ya está en marcha el segundo ciclo de la fase experimental de evaluación de maíz transgénico resistente a algunos insectos y herbicidas, e incluso se ha aprobado una solicitud para la siembra en etapa piloto en el Estado de Tamaulipas (SENASICA, 2011).

A nivel mundial, el rasgo transgénico más utilizado es el de resistencia a herbicidas (James, 2010). Uno de los eventos más empleados es el que determina la resistencia al herbicida glifosato que, a su vez, es el herbicida más ampliamente utilizado en el mundo (Green, 2009).

Por todo lo mencionado en párrafos anteriores, el tema de la detección de insertos transgénicos en materiales de maíz utilizados en todo el País es de gran relevancia. Sin embargo, hasta el momento todas las técnicas utilizadas implican altos costos y la necesidad de contar con laboratorios especializados en Biología Molecular para la

realización de las pruebas de confirmación. Es por esto que en el presente trabajo se propone una metodología de campo para detectar resistencia al herbicida glifosato en variedades de maíz mediante la aplicación de este herbicida en una dosis comercial a plantas de maíz en estado vegetativo, lo cual se puede

1.1 OBJETIVOS

Determinar en campo si la semilla de colectas de maíz, así como, de semillas comerciales, se encuentra contaminada con el transgen que confiere resistencia a glifosato.

Evaluar si la aplicación de glifosato a plantas de maíz, permite segregar entre plantas susceptibles y tolerantes a este herbicida para con ello, establecer la correspondencia entre la tolerancia exhibida y la presencia de transgenes para resistencia a glifosato.

1.2 HIPÓTESIS

- a) “La semilla de colectas de maíz y otras muestras comerciales de variedades mejoradas, usadas en México no portan el transgen de resistencia al herbicida glifosato”
- b) “A través de la aplicación del herbicida glifosato a plantas de maíz, es posible detectar resistencia a este herbicida tanto en colectas de maíces nativos, como en materiales comerciales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Maíz

2.1.1 Importancia

El maíz (*Zea mays* L.) es el cultivo predominante en el mundo (Tabla 1), aunque es superado en superficie cultivada por el trigo, ocupa el primer lugar mundial en cuanto a volumen de producción, cosechándose anualmente más de 700 millones de toneladas (FAOSTAT, 2010).

Los principales países productores son Estados Unidos y China. México ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en cuanto a volumen de producción (Tabla 1).

Tabla 1. Principales países productores de maíz en el mundo.

Posición	País	Producción (T)
1	EUA	307,142,010
2	China	166,032,097
3	Brasil	58,933,347
4	México	24,320,100
5	Argentina	22,016,926
6	India	19,730,000
7	Indonesia	16,323,922
8	Francia	15,818,500
9	Sudáfrica	12,700,000
10	Ucrania	11,446,800
TOTAL	MUNDIAL	725,276,261

Modificado de FAOSTAT, 2010

Los usos que el hombre le ha dado al maíz son múltiples, sin embargo, se pueden resumir en tres rubros que son: alimento humano; forraje o alimento para el ganado y; como materia prima para la industria. Como alimento se puede utilizar todo el grano en sus diferentes estadios de madurez, o bien, puede ser molido y obtenerse diferentes tipos de harina, como subproducto de la molienda en seco, también se obtiene un aceite comestible. Como forraje, puede utilizarse fresco o procesarse para obtener como producto final piensos para diferentes tipos de ganado. Y en lo que concierne a la industria, el grano de maíz es una importante materia prima para la producción de almidón

y sus derivados, tales como, edulcorantes (principalmente fructosa), aceites y alcohol, que son utilizados en la industria del papel y cartón, también en la textil, farmacéutica, alimenticia y otras (Robbutti, 2009).

Aproximadamente el 30% de la producción mundial es utilizada para consumo humano directo y como insumo industrial, mientras que el 70% se destina a piensos para ganado , convirtiéndose así, en un insumo fundamental para la producción de proteína animal en todo el mundo (Turrent y Serratos, 2004).

Se trata de una importante materia prima para una gran diversidad de industrias; así como, una fuente básica de energía en la dieta de gran parte del mundo en desarrollo.

En nuestro país, la importancia del maíz no se agota en consideraciones económicas o alimenticias, sino que es un elemento crucial para entender la identidad del mexicano ya que, como dijo Guillermo Bonfil:

“El maíz es una planta humana, cultural en el sentido más profundo del término, porque no existe sin la intervención inteligente y oportuna de la mano; no es capaz de reproducirse por sí misma. Más que domesticada, la planta de maíz fue creada por el trabajo humano.

El cultivar el maíz, el hombre también se cultivó. Las grandes civilizaciones del pasado y la vida misma de millones de mexicanos de hoy, tienen como raíz y fundamento al generoso maíz. Ha sido un eje fundamental para la creatividad cultural de cientos de generaciones; exigió el desarrollo y perfeccionamiento continuo de innumerables técnicas para cultivarlo; condujo al surgimiento de una cosmogonía que hacen del maíz una planta sagrada ; permitió la elaboración de un arte culinario de sorprendente riqueza; marcó el sentido del tiempo y ordenó el espacio en función de sus propios ritmos y requerimientos; dio motivo para las más variadas formas de expresión estética y se convirtió en la referencia necesaria para entender formas de organización social, maneras de pensamiento, conocimiento y estilos de vida de las más amplias capas populares de México. Por eso, en verdad, el maíz es el fundamento de la cultura popular mexicana.” (Bonfil, en Esteva y Marielle, 2007).

Sin embargo, si es necesario hablar de cifras, el maíz es el cultivo más extendido en México, anualmente se siembran más de siete millones de hectáreas, cosechándose de éstas, más de 20 millones de toneladas de grano, sin embargo, las importaciones de

este cereal han sido crecientes desde los años 80, llegando a ser en la primera década de este siglo hasta de una tercera parte del consumo Nacional (Barkin, 2007). Es el cultivo más importante de México, ocupa poco más de la mitad de la superficie sembrada en el país; representa casi una tercera parte del valor de la producción agrícola; existen poco más de 3 millones de productores de este grano (CEPF, 2007).

En el ámbito estatal (Tabla 2), cuatro entidades de la República contribuyen con más del 50% de la producción total anual (20.1 millones de toneladas), siendo los principales estados productores: Sinaloa con 26%, Jalisco con 12.6 %, Estado de México con 6.53% y Chiapas con 6.05% (SIAP-SAGARPA, 2009).

Tabla 2. Principales estados productores de maíz en México

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
SINALOA	566,356.33	5,236,719.74	9.76	2,687.25	14,072,353.40
JALISCO	606,834.74	2,543,055.73	4.77	2,607.16	6,630,149.61
MEXICO	566,437.11	1,316,201.80	2.44	3,073.11	4,044,831.14
CHIAPAS	686,266.06	1,218,455.51	1.78	3,042.06	3,706,618.39
MICHOACAN	477,473.75	1,182,457.59	3.32	2,678.23	3,166,893.02
VERACRUZ	580,541.30	1,138,874.90	2.14	3,170.06	3,610,302.57
GUERRERO	483,485.50	1,135,837.49	2.44	2,927.73	3,325,429.24
CHIHUAHUA	217,236.59	974,935.69	4.56	2,276.02	2,218,969.88
GUANAJUATO	383,253.88	844,469.96	4.70	2,644.34	2,233,069.19
PUEBLA	597,142.50	658,118.07	2.16	3,412.60	2,245,896.67
TOTAL NACIONAL	7,726,109.60	20,142,815.76	3.24	2,802.05	56,441,235.19

Fuente: SIAP-SAGARPA, 2009

2.1.2 Origen

El origen del maíz ha sido un tema de controversia durante más de un siglo, dentro del cual se han desarrollado un sinnúmero de investigaciones que han conducido a resultados diversos y en ocasiones contrapuestos, aunque también se han logrado algunos consensos al respecto.

Las posiciones actuales respecto al tema se dividen en dos campos principales. El primero atribuido fundamentalmente a Mangelsdorf (1964) quien junto con sus

colaboradores desarrollaron la conocida teoría tripartita que postula: 1) que el maíz cultivado fue domesticado de un maíz silvestre palomero-tunicado sin nudos cromosómicos; 2) que el maíz sin nudos cromosómicos se hibridó con el *Tripsacum* que tiene muchos nudos cromosómicos terminales dando origen a un nuevo tipo de planta, el teocintle; 3) que la hibridación directa de maíz con *Tripsacum* o la introgresión de germoplasma de *Tripsacum* vía teocintle a maíz dio origen a la mayoría de los tipos modernos de maíz que existen en América (Kato *et al.*, 2009). Sin embargo, numerosos estudios posteriores han refutado esta teoría dando lugar al apoyo mayoritario de la segunda teoría, que postula que el teocintle anual mexicano, y solamente esta planta, fue el ancestro del maíz cultivado, el cual fue originado mediante el proceso de domesticación llevada a cabo por la intervención humana, esta es actualmente la teoría más aceptada (Dorweiller y Doebley, 1997; Matsuoka *et al.*, 2002).

Respecto al área específica en donde se originó y domesticó el maíz, tampoco hay consenso. Prevalecen dos teorías alternativas:

- a) Teoría multicéntrica, que propone que el maíz tuvo un origen multicéntrico, es decir, que existieron varios centros de domesticación a partir de varias poblaciones de teocintle hace unos 8,000 años. Se determinaron cinco centros de domesticación: 1) Mesa Central de México, que dio origen al maíz primigenio que se le ha dado el nombre de Complejo Mesa Central; 2) región de altura media en los estados de Morelos, México, Guerrero y sus alrededores, que desarrolló el complejo pepitilla; 3) la región centro-norte de Oaxaca que originó el Complejo Tuxpeño; 4) el territorio comprendido entre los Estados de Oaxaca y Chiapas,, del cual resultó el germoplasma denominado Complejo Zapalote y 5) la región alta de Guatemala, de la cual surgió el germoplasma que se denominó Complejo Altos de Guatemala. Se propone que estos complejos migraron a lo largo de rutas diferentes y definidas conforme se incrementó su cultivo en su lugar de origen y domesticación (Kato *et al.*, 2009).
- b) Teoría unicéntrica o teoría del evento único de domesticación que propone que las poblaciones del teocintle de la Raza Balsas o subespecie (*ssp.*) *parviglumis* localizadas en el centro de la cuenca del Balsas (oriente de Michoacán, suroeste del Estado de México y norte de Guerrero) dieron origen al maíz (Matsuoka *et al.* 2002; Kato *et al.*, 2009)

En este punto cabe comentar algunos aspectos de los centros de origen de las plantas cultivadas. El genetista ruso Nikolai Vavilov estudió el origen y la distribución de las principales especies de plantas cultivadas en el mundo, y estableció ocho centros de origen, entre los que se encuentra Mesoamérica.

Los principales criterios para definir los centros de origen y diversificación genética, en especial en el caso del maíz, se mencionan a continuación:

- 1) Son áreas con una larga historia agrícola
- 2) Sus constantes geográficas se caracterizan por estar delimitadas por barreras naturales
- 3) Generalmente hay una gran diversidad de seres vivos en los múltiples ecosistemas
- 4) Existe una presencia ininterrumpida de agricultores nativos que por centurias o milenios han transformado, domesticado, diversificado y dispersado estas especies, recalcando así la importancia de la participación de los pueblos, en especial, los indígenas en este proceso. Esto es a lo que hoy día llamamos conservación *in situ*.

México es un país megadiverso y multicultural que es considerado centro de origen y diversificación genética de 15.4% de todas las especies que constituyen el sistema alimentario mundial. La relevancia de los centros de origen y diversificación, por ser reservorios genéticos activos, es muy grande hoy día, cuando el 90% del sistema alimentario mundial está constituido por menos de 120 especies de plantas cultivadas, y tan sólo cuatro especies vegetales (papa, arroz, maíz y trigo); y tres especies animales (res, pollo y cerdo) aportan más de la mitad de éste (Boege, 2009).

2.1.3 Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
Subreino:	Traqueobionta (plantas vasculares)
Superdivisión:	Spermatophyta (plantas con semillas)
División:	Magnoliophyta (plantas con flor)
Clase:	Liliopsida (monocotiledóneas)
Subclase:	Commelinidae
Orden:	Cyperales
Familia:	Poaceae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea mays</i> (GRIN, 2010)

Clasificación taxonómica del género *Zea*

El género *Zea* pertenece a la familia Poaceae que comprende más de 600 géneros. Los dos géneros del nuevo mundo más emparentados con el maíz son *Tripsacum* y *Zea*.

La clasificación del género *Zea* ha cambiado con el tiempo, la más reciente fue la elaborada por Doebley e Iltis (1980) quienes basándose en estructuras morfológicas neutrales, y poniendo especial atención a las glumas por ser estructuras en las que el humano no interviene en su modificación, obtuvieron como resultado una división del género en dos secciones: *Luxuriantes* y *Zea* (Doebley, 2003).

En la sección *Luxuriantes* se incluyen cuatro especies silvestres: *Zea diploperennis*, *Z. perennis*, *Z. luxurians* y *Z. nicaraguensis*. Las características comunes de hábitos perennes de las dos primeras, inflorescencias menos ramificadas, pedicelos más cortos en las espigas masculinas y frutos de formas trapezoidales en arreglo exterior, las relacionan con el género *Tripsacum*.

La sección *Zea*, contiene solamente la especie *Z. mays* con cuatro subespecies, caracterizadas por poseer cromosomas con estructuras heterocromáticas en posiciones intercalares y algunas terminales, con pedicelos más largos que los de la sección *Luxuriantes*. Los teocintles anuales de esta sección tienen cápsulas de los frutos en forma triangular y arreglo exterior (Kato, 2009).

Subespecies del género *Zea mays*

Zea mays L. ssp. *huehuetenangensis* (Iltis & Doebley) Doebley, distribuida en zonas altas de Guatemala (900-1650 msnm).

Zea mays L. ssp. *mexicana* (Schrader) Iltis, comprende las Razas Chalco del Valle de México, Mesa Central en el Bajío y Nobogame en la región sur de Chihuahua.

Zea mays L. ssp. *parviglumis* Iltis & Doebley o raza Balsas, según Wilkes, distribuida desde la sierra Madre del Sur, Cuenca del Balsas y Oaxaca hasta Nayarit.

Zea mays L. ssp. *Mays*, el maíz cultivado propiamente, distribuido en casi todo el territorio nacional (Kato *et al.* 2009).

2.1.4 Descripción botánica

El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual; el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando altura de uno a cinco metros, con pocos macollos o ramificaciones, presencia de nudos y entrenudos a lo largo del tallo, así como una médula esponjosa. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño ancho y variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Jugenheimer, 1988).

2.1.5 Biología reproductiva

Se trata de una planta alógama propagada por semilla, producida mediante polinización cruzada, que depende del viento como principal dispersor. Cuenta con una inflorescencia protándrica; sin embargo, décadas de selección y mejoramiento convencional, han producido variedades protogónicas.

El maíz es una planta monoica de flores unisexuales muy separadas y bien diferenciadas en la misma planta. Las flores que producen los granos de polen, donde se encuentra el gameto masculino, se localizan en la inflorescencia terminal llamada botánicamente panícula, sin embargo, conocida como espiga.

La panícula está estructurada por un eje central, ramas laterales primarias, secundarias y terciarias; las panículas de las variedades de clima caliente son largas, muy ramificadas y producen abundante polen; las de clima frío, son más cortas, menos ramificadas y producen menos polen. Las espiguillas se distribuyen en el eje central o en las ramificaciones de la panícula; se distribuyen por pares alternamente a lo largo del eje o raquis; cada espiguilla protegida por dos brácteas o glumas, y en su interior hay un eje o raquilla con dos flósculos, cada uno tiene la flor estaminada protegida por la lema y la palea, es decir, las flores estaminadas están en pares en cada espiguilla. La flor estaminada está compuesta de 3 estambres, cada uno con su filamento y su antera en cuyo interior están los granos de polen; en la base de los estambres están dos lodículos y un pistilo rudimentario. Esto explica que en ocasiones en la panícula se formen granos de maíz.

Cada panícula forma millones de granos de polen, estimándose en el rango de 10 a 25 millones para fecundar y formar 400 a 1000 granos arreglados en promedio de ocho a 24 hileras por mazorca.

El polen es muy ligero y puede ser transportado a largas distancias (100-1000 m) por el viento y los insectos.

Las flores pistiladas se localizan en las yemas florales que emergen en las axilas de las hojas. Están agrupadas también por pares, distribuyéndose a lo largo de la inflorescencia femenina, que es una espiga cilíndrica: consiste de un raquis central u olote en donde se insertan a lo largo, las espiguillas por pares, con glumas, lema y palea rudimentarias; cada espiguilla con dos flores, una fértil y otra estéril, formando hileras de flores paralelas; el hecho de ser una flor abortiva en cada par, origina hileras o carreras de maíz por pares, aun cuando en raras ocasiones ocurren hileras muy irregulares cuando en algunos pares las dos flores son fértiles y en otros, una es fértil y otra, abortiva.

Las flores pistiladas consisten en un ovario con pedicelo unido al raquis; un óvulo único, un estilo muy largo con propiedades estigmáticas, es decir, en toda su longitud es receptivo y germina el grano de polen. La inflorescencia femenina está cubierta por brácteas en cuyo conjunto forman el "totomoxtle".

La estructura de una inflorescencia femenina es similar al de una rama modificada, con un pedúnculo de longitud variable y flexible de tal forma, que con el peso del grano

cuelgue y quede protegido el fruto contra plagas y humedad. Un jilote está compuesto por un tallo formado por nudos y entrenudos con una inflorescencia femenina terminal. En cada nudo, nace una hoja modificada con la estructura de la vaina de la hoja de la planta, dicha hoja modificada se desarrolla hasta cubrir al jilote, el conjunto de hojas forman la cubierta del jilote (totomoxtle). Los estilos se extienden y desarrollan desde el ovario hasta emerger; tan pronto como salen son receptivos. Los estilos pueden durar una o dos semanas receptivos, y mientras no son polinizados continúan creciendo; una vez polinizados y ocurrida la fecundación se secan y permanecen en la mazorca hasta la cosecha. El elote es el resultado de la fecundación y desarrollo del óvulo (Reyes, 1990; Jugenheimer, 1988).

2.1.6 Diversidad

La diversidad de poblaciones de maíz que cultivan los campesinos mexicanos de muchas comunidades rurales es asombrosa.

El interés por la diversidad del maíz data de tiempos prehispánicos, como se refleja en los mitos sobre el origen de la planta y el hombre; así como en las representaciones pictográficas contenidas en los códices. Pero no es sino hasta el siglo XX que se empieza a estudiar y coleccionar en forma sistemática poblaciones locales nativas de maíz (Ortega Paczka, 2007). Los primeros trabajos en este sentido datan de la primera década del siglo pasado, sin embargo, es hasta 1951 que se publica la obra clásica *Razas de maíz en México* (Wellhausen *et al.*) misma que sienta un paradigma en este tipo de estudios y de la cual han emanado gran variedad de los mismos hasta nuestros días. Sin embargo, hubo una época en donde se pensaba que ya había suficientes trabajos y muestras resguardadas en los bancos de germoplasma y que en ellos se conservaba lo esencial de la diversidad. Mas, al empezar la década de los 70's tres hechos renovaron el interés en el asunto: a) la epifitía de *Helminthosporium maydis* raza T en Estados Unidos, provocada por el uso generalizado del citoplasma tipo Texas en los híbridos de maíz cultivados en ese país; b) la puesta en marcha de los programas de mejoramiento de maíz para las zonas de temporal regular y malo en México, cuando se hizo evidente que los recursos genéticos que se empleaban en ellos no eran los adecuados y que era poco lo que había en los bancos de germoplasma; y c) la reanudación de los trabajos de Efraím Hernández Xolocotzi sobre la diversidad de maíz y etnobotánica, seguido por numerosos investigadores (Ortega Paczka, 2007)

La importancia de la diversidad nativa del maíz es evidente si se atiende el concepto de centro de origen y diversidad, a continuación se enlistan tres motivos diferentes de interés por este tema:

- a) Para entender y proteger las relaciones entre el hombre y el maíz en el contexto de las comunidades rurales tradicionales.
- b) Para contribuir al conocimiento científico del maíz, que es una planta paradigmática a nivel mundial y sobre todo en México, de especial importancia en diversos capítulos de múltiples ciencias.
- c) Para salvaguardar los recursos genéticos y los saberes y conocimientos relacionados con ellos, tomando en cuenta que el maíz es fundamental para la soberanía alimentaria y el bienestar en México y en muchos otros países.

Desde el punto de vista agronómico, los elementos valiosos de las poblaciones nativas de maíz en México son:

- Adaptación, en conjunto, las poblaciones de maíz, pueden adaptarse a las múltiples condiciones ambientales y agronómicas que existen en la agricultura tradicional e incluso en la comercial.
- Aplicación, ya que tienen una gran variedad de usos no sólo alimenticios sino rituales y religiosas, además de ser la base de platillos para los cuales los maíces mejorados no son aptos.
- Rendimiento, existen evidencias de que entre los maíces nativos, hay poblaciones con alta capacidad de rendimiento, por sí mismas y en combinación con otros maíces. Tienen también alta respuesta a la selección para rendimiento, resistencia a varias enfermedades y plagas y hasta cierto punto a sequías y temperaturas extremas.
- Mejoramiento continuo, ya que mientras se encuentran salvaguardadas por los agricultores, continúan evolucionando, elevando su rendimiento y en ocasiones su resistencia a factores adversos, ganando especialización para muchos hábitat del agro, así como para usos especiales (Ortega Paczka, 2007).

Niveles de diversidad en maíz

La diversidad de maíz presente en México ha sido descrita y clasificada de acuerdo a dos corrientes de pensamiento: 1) las etnotaxonomías en donde el maíz recibe

diferentes nombres según su morfología o utilidad; sin embargo, en ocasiones, estas clasificaciones pueden generar cierta confusión, al considerarse y generalizarse el uso de nombres comunes locales; 2) la de la ciencia occidental, la cual se basa en las reglas de la taxonomía botánica ha generado unidades de clasificación de convención universal, tales como la especie, la subespecie, variedad y la raza. Este último concepto ha sido aplicado mundialmente a la clasificación del maíz, y fue definido por Anderson y Cutler (1942) como “Un grupo de individuos emparentados, con suficientes características en común para permitir su reconocimiento como grupo” (Kato *et al.*, 2009). Esta clasificación considera el mayor número de características morfológicas para describir a las plantas de cada una de las razas, siendo los rasgos de la mazorca los más importantes para diferenciar a las plantas en diferentes categorías raciales (Wellhausen *et al.* 1951).

Bajo este enfoque, la diversidad del maíz en México fue clasificada por Wellhausen *et al.* (1951), en lo que ha sido considerada una obra clásica en el tema. Los estudios posteriores han tenido un enfoque más integral, mediante el uso de la taxonomía numérica. Posteriormente se han utilizado diversas técnicas multivariadas sobre información de diferente naturaleza para clasificar las razas de maíz de México. Así, algunos autores han utilizado los efectos genéticos y la interacción genotipo-ambiente; mientras que otros caracterizaron las poblaciones por su polimorfismo isoenzimático, o bien, las características físicas y químicas del grano. (López-Romero, *et al.*, 2005).

La clasificación de razas de maíz en México se basa en cuatro categorías principales: caracteres vegetativos de la planta, caracteres del tallo, caracteres internos y externos de la mazorca y caracteres fisiológicos, genéticos y citológicos.

Los caracteres vegetativos de la planta están fuertemente influidos por las variaciones del ambiente, principalmente adaptación a la altitud y temperatura. Su distribución geográfica por las distintas regiones del país muestra susceptibilidad de la planta a su expansión por las zonas con bajo promedio anual de lluvias, donde el maíz crece en pequeños valles aluviales y en laderas hasta los 3,000 msnm. Estas condiciones ambientales se relacionan estrechamente con el desarrollo de las diferentes variedades de maíz.

Las razas de maíz en México fueron clasificadas por Wellhausen *et al.* (1952) en cinco grupos:

A. Indígenas antiguas

1. Palomero toluqueño
2. Arrocillo amarillo
3. Chapalote
4. Nal-tel

B. Exóticas pre-Colombinas

5. Cacahuacintle
6. Harinoso de ocho
7. Olotón
8. Maíz dulce

C. Mestizas prehistóricas

9. Cónico
10. Reventador
11. Tabloncillo
12. Tehua
13. Tepecintle
14. Comiteco
15. Jala
16. Zapalote chico
17. Zapalote grande
18. Pepitilla
19. Olotillo
20. Tuxpeño
21. Vandeño

D. Modernas incipientes

22. Chalqueño
23. Celaya
24. Cónico norteño
25. Bolita
- 26.

E. Serranas occidentales

27. Tablilla de ocho

28. Bofo

29. Gordo

30. Azul

31. Apachito

Las razas indígenas antiguas, son aquellas que se cree surgieron en México de granos de maíz primitivos; tienen desarrollos independientes en diferentes localidades y en diferentes ambientes pero descienden de un ancestro común sin hibridación y mantienen muchas características en común.

Se distinguieron cuatro razas indígenas antiguas, dos de ellas (Palomero Toluqueño y Arrocillo Amarillo) solamente se encontraron en altitudes mayores a los 2,000 m, mientras que las otras dos (Chapalote y Nal-Tel) se encuentran en tierras bajas con elevaciones de 100 msnm. Las cuatro razas antiguas se parecen en algunas de sus características a los maíces prehistóricos de Sudamérica. Las dos razas tropicales antiguas, se pueden sembrar en altitudes mayores a los 2,000 m, lo que no ocurre con las variedades modernas, lo que parece mostrar que las variedades antiguas son menos sensibles al cambio altitudinal que las modernas.

La raza Palomero Toluqueño es probablemente la más antigua de todas las razas indígenas de maíz, ya que exhibe entre sus características el tener granos pequeños y duros que son capaces de brotar rápidamente, con estrías en la base de los granos de maíz. También, exhibe una fuerte expansión de los pistilos, acompañada de una marcada división en filas alternadas, lo que es una característica primitiva y ocurre en otras razas clasificadas también como primitivas, incluyendo el maíz guaraní de Paraguay. Sin embargo, el Palomero Toluqueño no tiene glumas prominentes, que caracterizan a otras razas primitivas de maíz. De él se han derivado varias sub-razas y ha sido la predominante en el Altiplano Central Mexicano.

El grupo Nal-Tel es una variedad indígena antigua de origen maya, tiene una maduración temprana y tuvo influencia en los maíces tempranos de Guatemala, Cuba y tal vez del Caribe. Es uno de los progenitores de los maíces cilíndricos dentados. Está mejor adaptado a las tierras con menor altitud –100 msnm– pero produce mazorcas

normales hasta los 1,800 msnm. Se le encuentra con mayor profusión en la península de Yucatán, aunque también hay variedades similares a esta raza en las planicies de la costa Pacífica al norte de Pochutla y hasta Guerrero. También se han encontrado algunas mazorcas de Nal-Tel en la Huasteca, cerca de Taman, en San Luís Potosí.

Las razas exóticas pre-Colombinas se introducen en México desde Centro y Sudamérica, en tiempos anteriores a la conquista. Sus contrapartes sudamericanas están emparentadas con razas híbridas, algunas de las cuales son relativamente antiguas. En México se les encuentra solamente en algunas localidades. Por ejemplo, el cacahuazintle (que es un maíz harinoso) se localiza en México exclusivamente en algunas localidades de Tlaxcala y Puebla, y su mazorca es semejante a la variedad Salpor de Guatemala, que se extiende hasta Colombia, estando en Sudamérica su centro de diversidad.

Los maíces mestizos prehistóricos fueron resultado de los procesos de hibridación de las razas indígenas antiguas con las exóticas pre-Colombinas y de la hibridación de ambas con la teocinte. No hay evidencia histórica de sus orígenes y varias de ellas fueron resultado de la colonización temprana, aunque otras muestran un alto grado de estabilidad genética que hace pensar en mayor antigüedad. Las posibilidades de hibridación en teoría son de 36, pero solamente se reconocen 13 razas en esta categoría, debido a las diferencias ambientales que se producen por la latitud, longitud y altitud en el territorio mexicano. Estas características ambientales pueden producir aislamiento entre razas de maíz que crecen en distancias cortas, pero separadas por barrancas o montañas entre ellas (Wellhausen *et al.*, 1952; Reyes, 1990).

Los datos indican que en las razas de maíz en México, el cruzamiento natural ha sido y seguirá siendo de capital importancia para lograr la adaptación a las distintas condiciones geográficas, así como, para los usos que del maíz se hacen por parte de los diferentes grupos étnicos y poblaciones criollas a todo lo largo de la República mexicana.

Sobra decir que a partir de algunas de las razas antes mencionadas, se desarrollado la totalidad de las variedades mejoradas, públicas y comerciales, que de maíz, se disponen. Sin embargo, todavía es necesario el desarrollo de materiales diferentes para cada región y propósito por lo que es de capital importancia la conservación de la diversidad de maíz, ya que con ella podrían salir las respuestas a los problemas del futuro.

2.1.7 Métodos de mejoramiento genético convencional en maíz

La planta de maíz, como todas, se mejora ella misma, pero lentamente. Con la intervención del hombre la evolución se acelera y el mejoramiento es a corto, mediano y largo plazo.

En el mejoramiento, dos procesos son básicos:

1. Formar la variedad
2. Evaluarla en varios ambientes

Los métodos de mejoramiento tienen como finalidad cambiar la frecuencia génica y mover la media μ hacia la derecha, con la cual se logra la evolución acelerada de la población. Los cambios en la frecuencia génica son tanto para los caracteres cualitativos como para los cuantitativos.

Los métodos de mejoramiento comprenden dos grandes grupos:

- I. Métodos con escasa o nula endogamia que desarrollan variedades de polinización libre, con amplia variación genética y amplia área geográfica de adaptación. En estos se incluyen:
 1. La selección masal
 2. La selección masal estratificada
 3. La selección familiar
 4. Cruzas intervarietales
- II. Métodos con alto grado de endogamia que desarrollan variedades sintéticas e híbridos con menor variabilidad genética y reducida área geográfica de adaptación. Se incluyen:
 1. Selección recurrente
 2. Selección de líneas autofecundadas y evaluación de híbridos simples, de tres líneas e híbridos dobles
 3. Cruzas regresivas

Estos métodos basan sus esquemas en los recursos genéticos naturales disponibles en México y en los bancos de germoplasma dispersos en el mundo. Las colecciones e introducción de variedades, la selección y el cruzamiento intervarietal son fuentes del material básico inicial para el mejoramiento (Reyes, 1990).

2.2 Biotecnología (algunas consideraciones)

2.2.1 Definición

La Biotecnología incluye cualquier técnica que utilice organismos vivos o partes de los mismos para fabricar o modificar productos, para *mejorar* plantas o animales o para desarrollar microorganismos para usos específicos (Gafo, 2001).

En el Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB), se define la Biotecnología como toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos y sus derivados para la creación de productos, procesos o derivados para la generación o modificación de productos o procesos para usos específicos (CDB, 2002). Otra definición se refiere al uso de un organismo vivo para la obtención de un bien, producto o servicio (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria, CEDRSSA, 2006).

2.2.2 Biotecnología moderna e Ingeniería genética

En cuanto a la Biotecnología moderna, este concepto se usa, por un lado, para ubicar usos o servicios en los que intervienen seres vivos, pero a partir de conocimientos, técnicas y aplicaciones más avanzadas, tanto de Ingeniería genética, biología molecular y otras. El término se apega a la concepción de la aplicación comercial de las técnicas de la ingeniería genética basadas en el ADN recombinante, es decir, de la capacidad de rediseñar (alterar) las estructuras genéticas de un organismo vivo para hacer un aprovechamiento comercial del mismo.

Pero, por otro lado, el término biotecnología moderna es un término que se utiliza para atenuar la discusión política, ética y legal del uso de la ingeniería genética, entendiendo por Ingeniería Genética el conjunto de técnicas para modificar el código genético o genoma de los seres vivos en un laboratorio, mismas que dan origen a un organismo transgénico. La tecnología de la ingeniería genética, permite la transferencia de un gen, desde un organismo hacia otro, de otra especie diferente, transgrediendo las barreras biológicas (Turrent y Serratos, 2004).

Debido a la polémica liberación y creación de seres vivos transgénicos, los asesores en comunicación de compañías farmacéuticas y de semillas sugirieron evitar el uso de ciertas palabras; por ejemplo, en lugar de *ingeniería genética*, *transgénesis* o *transgénico*, se usa, *biotecnología moderna*, *recombinante* y *organismo genéticamente*

modificado, respectivamente. Desde entonces estos términos se utilizan estratégicamente por diversas compañías, pero son, técnicamente hablando, muy generales y dan pauta a imprecisiones.

El concepto de biotecnología moderna (después de la recomendación estratégica de comunicación a las empresas), utilizado en el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología y en la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados de México, dice así:

Se entiende la aplicación de técnicas *in vitro* de ácido nucleico, incluidos en el ácido desoxirribonucleico (ADN y ARN) recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u organelos, o la fusión de células más allá de la familia taxonómica, que supera las barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional (CEDRSSA, 2006).

2.3 Tolerancia y resistencia de plantas a herbicidas.

Existen algunos herbicidas denominados generales o totales por resultar fitotóxicos a cualquier tipo de planta. Sin embargo, a lo largo del tiempo se han desarrollado herbicidas con la capacidad de controlar un amplio espectro de especies de maleza sin afectar los cultivos en que se aplican, siempre considerando la posibilidad de que la selectividad que muestran hacia el cultivo, también sea mostrada hacia algunas especies de maleza. La selectividad mostrada en estos individuos (ausencia de daño por el herbicida), puede atribuirse a causas físicas, fisiológicas o bioquímicas presentes en estos organismos, lo cual es resultado de las diferencias genéticas entre especies vegetales (Cruz-Hipolito, 2010). Tal acción selectiva supone que determinadas especies de plantas cultivadas y malezas, son capaces de desarrollarse y crecer a las dosis recomendadas de aplicación agrícola del herbicida, aunque puedan ser dañadas a dosis varias veces superiores. Este tipo de respuesta en las plantas se conoce como tolerancia natural (Medina *et al.*, 2010).

La tolerancia a herbicidas, es definida por el Comité de Acción para la Resistencia a Herbicidas (HRAC, por sus siglas en inglés), como “la habilidad inherente de una especie para sobrevivir y reproducirse después de haberla sometido a un tratamiento herbicida. Lo

anterior implica que no hubo selección o manipulación genética para hacer a la planta tolerante; ésta es, naturalmente tolerante”

A diferencia de la tolerancia, el fenómeno de resistencia, es definido por el HRAC como “la habilidad heredable de una especie vegetal para sobrevivir y reproducirse después de haberla sometido a un tratamiento herbicida a dosis normalmente letales para la especie susceptible”. Este proceso puede originarse como consecuencia de la presión de selección generalmente impuesta por la aplicación continua de herbicidas en dosis elevadas, el uso repetido de herbicidas con el mismo modo de acción y/o de herbicidas con prolongados efectos residuales. Sin embargo, en una planta, la resistencia puede desarrollarse de manera natural o puede ser inducida por medio de técnicas como la transgénesis o selección de variantes resistentes obtenidas por cultivo de tejidos o mutagénesis (Heap, 2010).

2.4 Organismos vegetales genéticamente modificados (OGM): cultivos transgénicos.

2.4.1 Generalidades

Los OGM son organismos vivos (plantas, animales o bacterias) que han sido genéticamente "manipulados" mediante la inserción de un gen extraño. Se inserta el gen extraño, que puede provenir de muchas fuentes diversas, para aumentar el valor del organismo receptor. Los cultivos genéticamente modificados, por lo general se han creado para hacer una de dos cosas: (1) reducir los costos de producción a nivel de fincas (por ejemplo, por su resistencia a plagas y enfermedades) o (2) incrementar la calidad del producto (por ejemplo, porque mejoran la apariencia, el contenido nutricional o las características de procesamiento o almacenamiento del cultivo (Feldman, 2000).

Las principales características conferidas a los vegetales transgénicos se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Características conferidas a vegetales transgénicos

Característica	Justificación	Ejemplos
Tolerancia a herbicidas	Mayor eficiencia y seguridad en el uso de herbicidas	Soya, canola, algodón y maíz resistente a Glifosato
Tolerancia a insectos y/o enfermedades	Reducción en el uso de pesticidas y mayor eficiencia en el control de plagas	Algodón Bt, maíz, papa; papaya, tabaco y melón resistentes a virus
Mejora de la calidad	Desarrollo de nuevos alimentos o fuentes de nuevos productos	Jitomate de maduración retrasada; soya con mayor calidad de aceite; mayor calidad en claveles
Tolerancia a estrés biótico	Mejoramiento en la resistencia a sequías; facilitación de la producción en áreas marginales; facilitación en la fijación de nitrógeno	Investigación en maíz tolerante a la sequía
Mejora de la productividad	Mayor rendimiento por unidad de superficie	Arroz de alto rendimiento

Modificado de Nelson, 2001

Los vegetales transgénicos que actualmente están siendo evaluados en términos de bioseguridad y equivalencias agronómicas en nuestro país únicamente incluyen características de resistencia a insectos y herbicidas.

2.4.2 Métodos de obtención de vegetales transgénicos

La información genética adicional se puede introducir en los vegetales fundamentalmente por cuatro tipos de técnicas: transformación de protoplastos; transformación por electroporación; transformación por “biobombardeo” (biobalística) y transformación mediada por *Agrobacterium*.

Transformación de protoplastos. Consiste en la eliminación de la pared celular de los vegetales, rica en celulosa, mediante el uso de enzimas (o, por procedimientos mecánicos). Se originan así, los llamados protoplastos, células desnudas que presentan menores impedimentos a la introducción de ADN exógeno y que, al ser individuales, constituyen una aproximación más confiable al momento de pretender conseguir organismos no quiméricos (que presentan células transformadas y no transformadas). Los protoplastos pueden incluso fusionarse y generar híbridos entre especies sexualmente no compatibles.

Los protoplastos pueden obtenerse a partir de líneas celulares de callos iniciados desde embriones inmaduros, inflorescencias inmaduras, mesocótilos, la base las hojas inmaduras o anteras. Dichos protoplastos pueden ser transformados directamente con ADN exógeno (reacción normalmente facilitada por la adición de polietilenglicol en el tampón), o bien, mediante incubación con cepas específicas de la bacteria *Agrobacterium*, mediante electroporación o por tratamiento con liposomas. No existe una división muy estricta entre éste y los siguientes sistemas de transformación que se mencionan posteriormente, y el uso de protocolos que combinan varias de estas técnicas es una práctica habitual.

Transformación por electroporación. Consiste en la aplicación de pulsos eléctricos de elevado voltaje en tiempos muy pequeños. De este modo se crean poros temporales en las barreras externas de las células receptoras y se permite la entrada del ADN extraño. Sin embargo, debido a su baja reproductibilidad, no es una técnica muy empleada.

Transformación por “biobombardamiento” (biobalística). Se basa en el bombardeo de la célula vegetal con partículas de tungsteno y oro recubiertas de ADN (lo que se conoce como biobalística). La aceleración de las partículas puede producirse por medio de pólvora, gases como el CO₂ o el Helio, o por medio de una descarga eléctrica. Este es un método que se puede considerar en prácticamente todos los organismos vivos. En plantas se han conseguido grandes mejoras al aplicar algunas variaciones al protocolo general; por ejemplo, pre-cultivo de los explantes a transformar, uso de pantallas deflectoras, utilización de microproyectiles o someter el tejido a transformar a un pretratamiento osmótico, ya sea por secado parcial en una campana de flujo laminar o mediante cultivo en un medio que contenga un agente osmótico.

Los vegetales obtenidos por esta técnica presentan a menudo patrones complejos de integración de los transgenes, y es difícil que se den eventos individuales de integración. Además, la técnica parece ser especialmente complicada cuando se pretende integrar genes de gran tamaño debido a mecanismos de ruptura del ADN. La potencia de la biobalística es tal que permite la integración del ADN exógeno no solamente en el núcleo de la célula, sino que también puede incorporarlo en organelos subcelulares como el cloroplasto.

Transformación mediada por *Agrobacterium*. A pesar de la universalidad de la técnica recién descrita, la opción más utilizada hasta el momento para la introducción en las

plantas de material genético adicional es la mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Esta bacteria infecta determinados tipos de plantas, especialmente dicotiledóneas, a través de lesiones físicas (cortes y roturas) en las mismas. Como resultado se forman tumores llamados agallas en corona. Parte del ADN de esta bacteria (el llamado T-DNA), contenido en moléculas extracromosómicas llamadas plásmidos, se integra en los cromosomas vegetales y dirige el metabolismo de la planta en beneficio de la bacteria. El mecanismo de integración de este ADN está dirigido por un conjunto de genes bacterianos (genes *vir*, por virulencia), cuya expresión se induce en presencia de compuestos fenólicos liberados por las propias plantas en crecimiento, como la acetosiringona.

En el laboratorio se puede sustituir parte del ADN bacteriano transferido (T-DNA) por un gen o una secuencia de ADN de interés, al conservarse sólo los elementos que van a permitir la infección y eliminar cualquier otra secuencia adicional o innecesaria. En la mayoría de los casos, las plantas transgénicas obtenidas de este modo presentan eventos de integración sencilla en el cromosoma. Este método de transformación es, con toda seguridad, el más económico y no requiere de equipos sofisticados ni de protocolos complejos, y es tan utilizado en la actualidad que los otros métodos se encuentran prácticamente restringidos a aquellos vegetales en los que la infección con *Agrobacterium* no es eficiente. La desventaja inicial de que *Agrobacterium* infecta de preferencia dicotiledóneas pero no es muy eficaz en monocotiledóneas, ha sido superada con la adaptación y creación de protocolos específicos para estas últimas.

Así, pueden destacarse las experiencias en la transformación de embriones inmaduros y callos embriogénicos de trigo, embriones inmaduros de cebada, maíz y caña de azúcar. Lo mismo ocurre con otros vegetales tradicionalmente resistentes al sistema de transformación mediado por *Agrobacterium*. Así, la formación de barreras necróticas con las que algunas plantas como la vid se defienden de la penetración de la bacteria ha sido superada mediante la adición a la mezcla de antioxidantes como la polivinilpirrodina o el ditiotreitól.

Métodos alternativos de transformación. Existen otros métodos alternativos de transformación de plantas no muy usados por encontrarse en etapas iniciales de desarrollo o por ser poco fiables. Entre ellos, se pueden destacar la introducción de ADN por medio de fibras de carburo de celulosa, aunque tales fibras tienen un alto potencial

carcinogénico; la microinyección de ADN en cigotos, una técnica mucho más utilizada en animales; o la toma de ADN desnudo mediada por microhaces de láser.

Transformación de cloroplastos. Una variante de la biobalística, que cada vez está adquiriendo una mayor relevancia, permite la integración del ADN exógeno no solamente en el núcleo de la célula, sino también en organelos como los cloroplastos. Debido a que el genoma de estas estructuras subcelulares se encuentra presente en alto número de copias (aproximadamente 60 a 100 copias de ADN por organelo), y que el número de cloroplastos por célula vegetal es también muy elevado (una célula de una hoja puede tener hasta 50 cloroplastos), la transformación de cloroplastos permite la introducción de miles de copias del ADN extraño por célula vegetal y genera cantidades muy elevadas de la proteína correspondiente, al llegar a constituir hasta 46% de las proteínas solubles totales (Fernández-Perrino, 2006).

2.4.3 Principales cultivos transgénicos comercializados.

A diferencia de lo sucedido con la Revolución Verde, más del 90% del desarrollo de la tecnología para producir productos transgénicos está en manos del sector privado, por lo que le tema de la propiedad intelectual y las patentes adquiere una importancia especial.

Dentro de las empresas pioneras en este campo se pueden mencionar a Monsanto, Calgene y Ciba Geigy, las cuales desarrollaron y comercializaron a inicios de la década de los noventa productos como soya, algodón y maíz transgénicos, que son los productos de mayor impacto hasta el momento.

Además de éstas, otras empresas importantes participan activamente en este mercado, como son: Novartis, Pioneer, DuPont, Aventis, entre otras (CORECA, 2000).

Año tras año el Servicio para la Adquisición de Aplicaciones Agro-biotecnológicas (ISAAA, por sus siglas en inglés) publica un informe con los datos de adopción de cultivos transgénicos en el mundo. Este organismo indica que en el 2010 se cumplió el décimo quinto aniversario de la comercialización de los OGM's, sembrados por primera vez en 1996. El número acumulado de hectáreas desde 1996 hasta el 2010 exceden el billón, haciendo de esta tecnología la más rápidamente adoptada en la historia de la agricultura moderna (James, 2010).

En este mismo año, el número de países que plantaron OGM's ascendió a 29, cuatro más que en el año anterior. Los países que encabezan la lista se encuentran listados en la Tabla 4.

Tabla 4. Superficie de Organismos Genéticamente Modificados sembrada por país

PAÍS	SUPERFICIE Millones de ha	Cultivos
Estados Unidos	66.8	Maíz, soya, algodón, canola, remolacha, alfalfa, papaya
Brasil	25.4	Soya, maíz, algodón
Argentina	22.9	Soya, maíz, algodón
India	9.4	Algodón
Canadá	8.8	Canola, maíz, soya, remolacha
China	3.5	Algodón, papaya, álamo, tomate, chile
Paraguay	2.6	Soya
Pakistán	2.4	Algodón
Sudáfrica	2.2	Maíz, soya, algodón
Uruguay	1.1	Soya, maíz
Bolivia	0.9	Soya
Australia	0.7	Algodón, canola
Filipinas	0.5	Maíz
Myanmar	0.3	Algodón
Burkina Faso	0.3	Algodón
España	0.1	Maíz
México	0.1	Algodón, soya

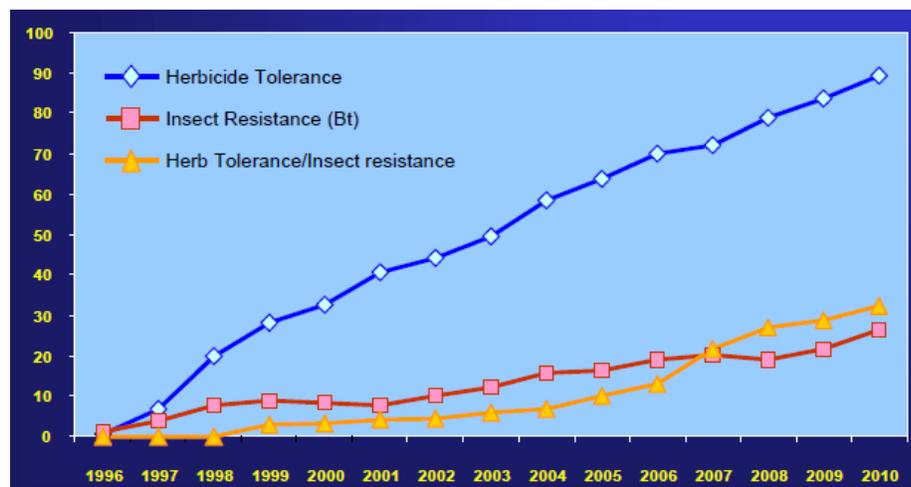
Modificado de James, 2010.

México cultivó alrededor de 100,000 hectáreas de estos cultivos, principalmente soya y algodón, aunque también debe considerarse la superficie destinada a los ensayos de evaluación de maíz (menor a 2 ha).

En cuanto a la adopción por cultivo, la soya continúa siendo el principal cultivo transgénico sembrado a nivel mundial, ocupando 73.3 millones de hectáreas lo cual equivale al 50% del área mundial total sembrada con OGM's; seguida por el maíz (46.8 millones de hectáreas y 31%), el algodón (21.0 millones de hectáreas y 14%) y la canola (7.0 millones de hectáreas y 5%).

En lo concerniente a la adopción por rasgo, la tolerancia a herbicidas ha sido consistentemente la característica dominante. En 2010, la tolerancia a herbicidas desplegada en soya, maíz, canola, remolacha y alfalfa, ocupó 61% de la superficie total ocupada por cultivos transgénicos. En este mismo año, los eventos apilados, es decir, los eventos en los cuales se incluye más de un rasgo o bien un mismo rasgo pero por medio

de más de un transgen (resistencia a insectos + tolerancia a herbicida) ocuparon 22% del área total. Es decir, que en total la tolerancia a herbicidas ya sea en eventos individuales o apilados, ocupó 83% de la superficie total sembrada con cultivos genéticamente modificados (James, 2010).



James, 2010

Figura 1. Área global de cultivos transgénicos por rasgo (Millones de hectáreas)

2.5 Cultivos transgénicos resistentes a herbicidas (CRH)

Los cultivos resistentes a herbicidas contienen rasgos introducidos mediante técnicas de la Ingeniería Genética que les permiten sobrevivir a determinados herbicidas que previamente habrían destruido al cultivo, lo anterior, hace posible que los agricultores utilicen moléculas más efectivas y en algunos casos menor número de herbicidas.

En general, la mayoría de los cultivos son capaces de soportar uno o más herbicidas en el mercado actual. Lo anterior ha sido la base del control selectivo de malezas en los últimos sesenta años (Heap, 2010).

La adopción de cultivos transgénicos resistentes a herbicidas se ha incrementado sustancialmente en la última década. La mayor parte de este incremento puede atribuirse a la superficie cultivada de soya, maíz, canola y algodón resistentes a glifosato, llegando a ocupar más del 50% de las hectáreas cultivadas con algodón en Estados Unidos en el 2001 y el 98% de las hectáreas cultivadas con soya en Argentina (Owen y Zelaya, 2005).

Los resultados de este cambio sin precedente en la agricultura han sido múltiples, sin embargo, probablemente el más significativo es la simplificación en las estrategias de control de malezas ya que ha permitido a los agricultores aplicar un solo herbicida (glifosato) a elevadas concentraciones de ingrediente activo y en múltiples ocasiones durante el desarrollo del cultivo sin preocuparse de que el herbicida pueda dañar el cultivo. Así, mientras un número considerable de estudiosos de la agricultura y la economía sugieren que la adopción de cultivos resistentes a herbicidas reducirá dramáticamente el uso de herbicidas, otros sugieren que en realidad el uso de herbicidas está aumentando (Beenbrook, 2001; Owen y Zelaya, 2005). En cualquier caso, el número de herbicidas utilizados en este tipo de cultivos ha disminuido, con un consecuente aumento de las implicaciones ecológicas como la reducción de la diversidad biológica dentro de las áreas de cultivo, facilitando cambios poblacionales en las comunidades de malezas y la evolución de biotipos resistentes a herbicidas.

2.5.1 Preocupaciones en torno a los Cultivos resistentes a herbicidas

Con base en la observación de los resultados y consecuencias derivados de la siembra de CRH's a nivel mundial, los científicos han desarrollado una lista de las mayores preocupaciones en torno a estos cultivos, las más importantes se mencionan a continuación.

a) Cambios en las poblaciones de malezas. Los CRH's representan un cambio en las prácticas de manejo de malezas. Se sabe que las dos fuerzas selectivas más importantes dentro de un agroecosistema son la labranza y el régimen de herbicidas. Es así, que la adopción de CRH's resultará en una mayor presión de selección sobre la comunidad arvense debido al uso de un número limitado de herbicidas diferentes, lo cual da como resultado un incremento en la presión de selección dentro del cultivo, aumentando también, los cambios en las poblaciones de malezas. Esta presión de selección ejercida por los herbicidas puede resultar en cambios en las poblaciones de arvenses debidas ya sea a la tolerancia natural de algunas especies a este herbicida, o bien, a la evolución de resistencia a herbicidas entre la población arvense. Ambas han sido documentadas como respuesta al crecimiento en la adopción de esta tecnología (Owen y Zelaya, 2005)

b) Comportamiento del rendimiento. Es posible que este tipo de cultivos sufran una reducción en el rendimiento, ya sea directamente por el evento insertado, o bien, porque el evento no fue insertado en las variedades que tienen mejor desempeño en diversas

regiones. Aunque en los últimos años, las empresas han insertado los eventos transgénicos en sus líneas élite y esto ha dejado de ser un problema serio (Heap, 2010).

c) Flujo genético. Es una preocupación generalizada el hecho de que los rasgos transgénicos sean transferidos entre el cultivo y sus parientes malezoides, que podrían convertirse en serios problemas al adquirir la resistencia que provee el rasgo introducido (Heap, 2010). Esto se vuelve más serio en países considerados como centro de origen de los cultivos, siendo el caso de México con el maíz, en donde sería gravísimo que el teocintle adquiriera algún rasgo transgénico ya que se estaría dejando de conservar al antecesor del cultivo más importante de nuestro país, pero también, se estaría agravando la situación del teocintle como maleza, ya que por su cercanía filogenética, es un maleza muy competitiva y difícil de controlar en maíz.

d) Deriva del herbicida. La deriva ocurre cuando un herbicida es aplicado en un área, pero por efectos del viento o el clima afecta plantas en otra área. Lo cual puede resultar en un problema económico importante si el herbicida daña un cultivo susceptible adyacente; o en un problema ambiental si el herbicida mata especies “no objetivo” en áreas de importancia ambiental (Heap, 2010).

e) Plantas voluntarias. Las plantas voluntarias de cultivos precedentes en una parcela, representan un problema similar a las malezas, ya que compiten por los recursos dentro del agrosistema, pero si son voluntarias resistentes a un herbicida, el problema se agrava de manera considerable ya que tendrá menos elementos para el control de las mismas (Heap, 2010; Owen y Zelaya, 2005).

d) Resistencia de malezas. El uso repetido de un solo herbicida al cual se le ha conferido resistencia al cultivo, ejerce una presión de selección de gran magnitud sobre las especies de maleza, por lo que se incrementa la probabilidad de desarrollo de resistencia en malezas, aún cuando sean herbicidas en los que la frecuencia inicial de individuos resistentes sea muy baja. Este es el caso del herbicida glifosato en el que se abundará más adelante (Heap, 2010).

2.5.2 Cultivos resistentes a glifosato

2.5.2.1 Generalidades del herbicida glifosato.

El glifosato se comercializó a partir de 1974 principalmente para el control no selectivo de malezas en terrenos sin cultivo. Se trata de la molécula herbicida más ampliamente utilizada a nivel mundial (Green, 2009). Sus características de alta sistemicidad, baja toxicidad y ausencia de residuos en el suelo lo convirtieron en el herbicida ideal para el desarrollo de cultivos genéticamente modificados (Rosales, 2010).

En 1983, se aisló la bacteria de suelo *Agrobacterium tumefaciens* cepa cp4 que es altamente tolerante al glifosato porque su enzima 5-enolpiruvilshikimato 3-fosfato sintasa (EPSPS) es menos sensible que la EPSPS encontrada en las plantas (Green, 2009; Dill, 2005). Para 1986 se logró insertar el gen *cp4 epsps* en el genoma de plantas y se desarrollaron cultivos resistentes a glifosato.

La soya transgénica resistente a glifosato fue el primer cultivo comercial de este tipo y estuvo por primera vez disponible en el mercado en 1996. Desde ese año, la resistencia a glifosato ha sido también comercializada en canola, algodón, maíz y remolacha azucarera.

Composición química y modo de acción:

El glifosato es químicamente una sustancia derivada de la glicina. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) nombra a esta sustancia como N-(fosfometil) glicina.

Existen formulaciones de glifosato que incluyen ácidos, sales monoamónicas, sales diamónicas, sales isopropilaminicas, sales de potasio, sales de sodio y trimetilsulfuron. La forma más conocida es el ácido (NPIC, 2009).

El glifosato es un potente herbicida post-emergente, sistémico de amplio espectro, transportado fácilmente vía floema a toda la planta. Es absorbido a través de la superficie de hojas y tallos y posteriormente es translocado y se concentra en los tejidos meristemáticos (Franz *et al.*, 1997).

La acción principal del glifosato dentro de la planta es la inhibición de la enzima EPSPS, una enzima presente en todas las plantas, localizada dentro del cloroplasto en la ruta del ácido shikimico, lo cual evita la producción de corismato, sustancia requerida para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos esenciales, tales como tirosina, fenilalanina y

triptófano, lo cuales son utilizados por la planta en la síntesis de proteínas y muchos productos secundarios (Franz, *et al.*, 1997).

2.5.2.2 Resistencia de malezas a glifosato

Antes del lanzamiento del primer cultivo transgénico resistente a glifosato hubo un gran debate sobre si la resistencia a este herbicida en malezas podría convertirse en un asunto de gran preocupación. Algunos científicos argumentaban que esta sustancia había sido utilizada durante muchos años y hasta ese año (1995), no se había reportado un solo caso de resistencia debido a que este herbicida era considerado como de bajo riesgo para generar resistencia. Sin embargo, otros afirmaron que si no se manejaba correctamente, el aumento masivo en el área y la intensidad en el uso del glifosato resultarían en el desarrollo de resistencia al mismo en malezas, lo cual amenazaría la durabilidad de los cultivos resistentes a éste (Bradshaw, *et al.*, 1997).

Sin embargo, desde la introducción de los cultivos resistentes a glifosato se ha registrado un aumento constante en el número y el área de malezas resistentes a glifosato. Lo cual es una consecuencia directa del uso de este herbicida en este tipo de cultivos.

Aunque es verdad que los primeros casos documentados de biotipos de malezas resistentes a herbicidas, no estuvieron asociados a cultivos resistentes ya que *Lolium rigidum* en Australia y *Eleusine indica* en Malasia se encontraron asociados a cultivos convencionales. La detección de resistencia en *Coniza canadensis* (VanGessel, 2001) dentro de un campo de soya resistente a glifosato en Estados Unidos, probó que esta tecnología podría desembocar en un aumento en el número de especies resistentes, ya que la resistencia en *C. canadensis* se debió a un uso repetido de glifosato en ausencia de un programa de manejo integrado de malezas, lo cual es lo común en este tipo de cultivos.

En la actualidad se ha confirmado la resistencia a glifosato en 19 especies, muchas de ellas en sistemas de producción con uso de cultivos resistentes a este herbicida (Tabla 5). Por su gran agresividad, para controlar algunas de estas especies ha sido necesario que se lleven a cabo diversas acciones de control integrado que no eran usuales en el pasado, así como la utilización de herbicidas residuales (Rosales, 2010).

Tabla 5. Malezas que han desarrollado resistencia a glifosato

Año	Especie de maleza	Ubicación
1996	<i>Lolium rigidum</i>	Australia, Estados Unidos y Sudáfrica
1997	<i>Eleusine indica</i>	Malasia
2000	<i>Conyza canadensis</i>	Estados Unidos
2001	<i>Lolium multiflorum</i>	Chile, Brasil, Estados Unidos
2003	<i>Plantago lanceolata</i>	Sudáfrica
2003	<i>Conyza bonariensis</i>	Sudáfrica, España, Brasil, Estados Unidos
2004	<i>Ambrosia artemisifolia</i>	Estados Unidos
2004	<i>Ambrosia trifida</i>	Estados Unidos
2004	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Colombia
2005	<i>Amaranthus palmeri</i>	Estados Unidos
2005	<i>Sorghum halepense</i>	Argentina, Estados Unidos
2005	<i>Amaranthus tuberculatus</i>	Estados Unidos
2006	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Brasil
2007	<i>Digitaria insularis</i>	Brasil
2007	<i>Echinochloa colona</i>	Australia
2007	<i>Kochia scoparia</i>	Estados Unidos
2008	<i>Urochloa panicoides</i>	Australia
2008	<i>Lolium perenne</i>	Chile
2009	<i>Conyza sumatrensis</i>	España

Fuente: HRAC, 2010.

2.6 Maíz genéticamente modificado (transgénico) en México

2.6.1 Presencia de maíz transgénico en México

Las primeras advertencias de la entrada de maíz transgénico a México fueron hechas por la comunidad científica hacia las autoridades gubernamentales desde 1995 (Serratos, 2002 citado por Turrent y Serratos, 2004). Sin embargo, la primera detección confirmada fue en 1999 cuando Greenpeace analizó algunos granos importados de Estados Unidos vía el Puerto de Veracruz (Turrent y Serratos, 2004).

El primer estudio formal que derivó en una polémica publicación en la revista *Nature* fue el llevado a cabo por Quist y Chapela (2001). Este estudio afirmaba que se habían encontrado, aunque en muy bajas frecuencias, secuencias transgénicas en variedades nativas de maíz de la Sierra Juárez en Oaxaca.

Debido a la metodología y al esquema de colecta, el artículo fue ampliamente refutado, sin embargo, la conclusión principal fue aceptada por la mayor parte de la comunidad científica, lo cual motivó a que el gobierno Federal a través de la Secretaría de

Agricultura, el Comité Intersecretarial de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados (CIBIOGEM) y la CONABIO coordinaron a un grupo de investigadores para hacer un estudio más amplio en Oaxaca y Puebla con el objetivo de confirmar y en su caso, determinar la extensión y frecuencia del maíz transgénico en estos Estados. Estas instituciones junto con el Instituto Nacional de Ecología (INE), encontraron que el 95% de las 21 variedades locales de maíz muestreadas, tenían niveles bajos y variables de transgenes (Ezcurra, 2001 citado por Mercer y Wainwright, 2007).

El Centro Internacional de Mejoramiento en maíz y trigo (CIMMYT) en 2002 analizó las colectas provenientes de Oaxaca contenidas en su banco de germoplasma, dichas colectas hechas entre 1997 y 1999, resultaron estar libres de transgenes (Mercer y Wainwright, 2007).

Durante 2003 y 2004, algunas Organizaciones no gubernamentales realizaron pruebas en variedades locales de nueve Estados usando equipos portátiles para determinar la presencia o ausencia de cinco proteínas presentes en organismos transgénicos, encontraron evidencia de uno a tres transgenes en muchas de las comunidades analizadas. Identificaron dos transgenes de resistencia a insectos y uno de resistencia a glifosato (ETC, 2003).

Ortiz-García *et al.* (2005) muestrearon la región de la Sierra Juárez en Oaxaca donde Quist y Chapela (2001) encontraron evidencia de presencia transgénica con el fin de producir un análisis estadístico más riguroso de la distribución y el grado de dispersión de los transgenes en las variedades locales. Sin embargo, no pudieron detectar transgenes en las más de 870 muestras analizadas. Esta publicación también fue ampliamente criticada por la comunidad científica debido a la metodología de colecta.

En el 2007, Serratos-Hernández *et al.*, muestrearon 42 parcelas de maíz en el Distrito Federal y utilizaron el Ensayo Inmunoenzimático para la detección de anticuerpo (ELISA, por sus siglas en inglés) para detectar tres proteínas transgénicas, encontraron la expresión de proteínas de resistencia a insectos en dos campos; y de resistencia a glifosato en otro, constituyendo así, el primer reporte de transgénicos en el Distrito Federal. Derivado de esta publicación, el gobierno del Distrito Federal publicó la Declaración de Protección de las Razas de maíz del Altiplano de México, cultivadas y producidas en el Distrito Federal, con lo que se declara a esta entidad como libre de maíz transgénico (El Economista, 2009).

Dos estudios recientes también mostraron evidencia de la presencia de secuencias transgénicas en variedades nativas de maíz. El primero, encabezado por Dyer *et al.* (2009) con ayuda de diversas organizaciones no gubernamentales, muestrearon lotes de semillas de todo el país, encontrando proteínas de resistencia a insectos en dos localidades de Guanajuato y cuatro de Veracruz, además de una en Oaxaca y otra en Yucatán con expresión de la proteína de resistencia al herbicida glifosato. Expresado en frecuencias, se diría que se encontraron proteínas recombinantes *Cry1Ab/Ac* en 3.1% de las muestras y *CP4/EPSPS* en 1.8%. Estas proteínas fueron más abundantes en el sureste, sin embargo es importante la documentación de la región centro-norte del país.

También en 2009, se publicó un estudio de Piñeyro-Nelson *et al.* en el cual se presentan datos que confirman la presencia de transgenes en 3 de las 23 localidades muestreadas en 2001. En muestras tomadas en 2002 de 9 localidades no se detectaron este tipo de secuencias, sin embargo, en muestras de 2004, se encontró la presencia de transgenes en dos localidades que habían resultado positivas en 2001. Estos resultados sugieren la persistencia o reintroducción de transgenes hasta 2004 en el área muestreada, en este caso, la Sierra Juárez en Oaxaca.

En cuanto al origen de estos materiales transgénicos encontrados en México, existen diversas explicaciones. Una de ellas es que se sabe que hasta el 2003, año en que México ratificó el Protocolo de Cartagena, las importaciones de grano de maíz no estaban reguladas, es así que fueron importadas anualmente 5 millones de toneladas métricas entre 1997 y 2003. Estados Unidos produce y comercializa maíz transgénico desde que fue desregulado en 1996 y se sabe que el grano importado es una mezcla de convencional con transgénico (30%). En cuanto al destino de estas importaciones, la industria en general y sobre todo la alimenticia acapara un gran porcentaje, sin embargo, el resto históricamente se ha distribuido como ayuda alimentaria en áreas rurales marginadas de nuestro país a través de organismo como DICONSA. Se calcula que alrededor de 0.6 millones de toneladas métricas de grano de maíz con alta probabilidad de ser mezclas entre convencional y transgénico, fueron internados en áreas rurales y comunidad indígenas y campesinas aisladas en el periodo comprendido entre los años 1997 y 2003 (Turrent y Serratos, 2004).

Los sistemas agrícolas en áreas aisladas son abiertos y es bien conocido que los agricultores-campesinos prueban diferentes fuentes de semilla, ya sean variedades mejoradas o variedades locales intercambiadas en el comercio local. Sin embargo,

también puede darse el caso de que el maíz proveído por el Gobierno en las tiendas de asistencia social sea la única fuente de semilla después de un ciclo agrícola pobre. Es decir, que mientras el maíz transgénico a nivel experimental es regulado, hay otras rutas por las cuales este tipo de maíz puede entrar en los sistemas agrícolas de nuestro país, ya que los agricultores pueden decidir sembrar el grano por no contar con otra fuente de semilla, o bien, por encontrarle características favorables para él y debido a que no hay forma de diferenciar físicamente entre maíz convencional y transgénico, pudieron haber sembrado este tipo de maíz sin darse cuenta.

Otra fuente de semilla transgénica de maíz pueden ser las semillas híbridas introducidas de Estados Unidos por los agricultores de los estados del norte del país. Es el caso de Chihuahua en 2007, donde la Organización Agrodinámica Nacional afirmó que habían más de 2 mil hectáreas en este Estado sembradas con maíz transgénico. En respuesta a estos señalamientos la SAGARPA por medio del SENASICA llevo a cabo un procedimiento de inspección por medio del cual encontró evidencia de transgénicos sembrados en un número mucho menor de hectáreas (Villalpando, 2007). La organización Greenpeace realizó en 2008 colectas de semilla en los lotes denunciados en 2007, realizó análisis moleculares y logró demostrar la presencia del promotor 35S en varias localidades (Greenpeace, 2008). Sin embargo, estas situaciones no son exclusivas del estado de Chihuahua, aunque no se han emitido reportes oficiales se sabe que agricultores de estados como Sonora, Sinaloa, Tamaulipas, entre otros, han traído semilla de maíz transgénico al territorio nacional para sembrarla en sus parcelas.

2.6.2 Eventos transgénicos aprobados en México

En México, la siembra de maíz transgénico con fines comerciales sigue estando prohibida; sin embargo, el uso de maíz transgénico en actividades industriales en especial la alimenticia está permitida. Es así que la Secretaria de Salud por medio de la Comisión Federal contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) realiza un evaluación de inocuidad caso por caso de los Organismos Genéticamente Modificados destinados al uso o consumo humano, procesamiento de alimentos, biorremediación y salud pública producto del cual emite una aprobación o un rechazo para la comercialización de los mismos en el territorio Nacional.

Los eventos aprobados por la COFEPRIS hasta marzo de 2011 se encuentran disponibles en su sitio web (www.cofepris.gob.mx).

2.6.3 Solicitudes de permiso para liberación de maíz genéticamente modificado al ambiente

La Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados publicada en el Diario Oficial de la Federación el 18 de marzo de 2005 indica que para llevar a cabo:

- I. La liberación experimental al ambiente de uno o más OGM's
- II. La liberación al ambiente en programa piloto de OGM's y
- III. La liberación comercial al ambiente de cualquier OGM.

Se requerirá un permiso que en la misma Ley está definido como el acto administrativo que le corresponde emitir a la SEMARNAT o a la SAGARPA, en el ámbito de sus respectivas competencias conforme a esta Ley, necesario para la realización de la liberación experimental, la liberación en programa piloto, la liberación comercial y la importación de organismos genéticamente modificados para realizar dichas actividades, en los casos y términos establecidos en esta Ley y en las Normas Oficiales Mexicanas que de ella deriven.

2.6.4 Permisos de liberación al ambiente de maíz GM del año 2010.

En el año 2010 el SENASICA se recibió un total de 117 solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado, 54 de ellas implicaban el rasgo de resistencia a glifosato y son las que se presentan en el cuadro siguiente.

La mayor parte son para la liberación en fase experimental en cuyo caso la mayoría están aprobadas, sin embargo, también se incluyen algunas en fase piloto de las cuales todas menos una están en fase de análisis de riesgo o resolución negativa, sin embargo, hay una que está aprobada para la fase piloto en el estado de Tamaulipas, esta situación es preocupante, ya que se sabe que la etapa experimental debe durar por lo menos 3 ciclos agrícolas para que la evidencia sea confiable, sin embargo en este caso la Secretaría valoró como suficiente la información generada en un ciclo agrícola para que se aprobara el avance a la fase siguiente.

Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PROMOVENTE	UI OCDE	EVENTO	FENOTIPO ADQUIRIDO	MARCA COMERCIAL	ESTADO	TIPO LIBERACIÓN	SUPERFICIE APROBADA	STATUS
Syngenta	GA21 (MON-00021-9)	GA21 (MON-00021-9)	Tolerancia al glifosato.	Roundup Ready TM .	Tamaulipas	Experimental	0,8	Permitida
Monsanto.	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Tamaulipas	Experimental	10	Permitida
Monsanto.	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Tamaulipas	Experimental	10	Permitida
Monsanto..	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Tamaulipas	Experimental	10	Permitida
PHI	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Tolerancia al herbicida glufosinato de amonio, glifosato y resistencia a Insectos lepidópteros y coleópteros.	Herculex XTRA x RR2	Nayarit	Experimental	60,29	Permitida
Monsanto..	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Sonora	Experimental	14	Permitida
Monsanto.	MON-89034-3 x MON-00603-6	MON-89034-3 x MON-00603-6	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YIELDGARD VT PRO/RR-2	Sonora	Experimental	14	Permitida
Monsanto.	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Tamaulipas	Experimental	14	Permitida

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

Monsanto.	MON-89034-3 x MON-00603-6	MON-89034-3 x MON-00603-6	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YIELDGARD VT PRO/RR-2	Sinaloa	Experimental	38	Permitida
Monsanto.	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Sinaloa	Experimental	38	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Sonora	Experimental	100	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Resistencia a algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y con Tolerancia a los herbicidas que contienen los ingredientes activos Glifosato y Glufosinato de Amonio.	Herculex XTRA x RR2	Sonora	Experimental	200	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	Resistencia a algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y con Tolerancia a los herbicidas que contienen los ingredientes activos Glifosato y Glufosinato de Amonio.	Herculex XTRA x RR x MON810	Sonora	Experimental	200	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	DAS-01507-1	DAS-01507-1	Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros.	HX1 (1507).	Sinaloa	Experimental	0,064	Permitida

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI / Dow AgroSciences	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Para la Protección Contra Algunos Insectos Lepidópteros y con Tolerancia a Herbicidas que contienen el Ingrediente Activo Glifosato.	HX1xRR2 (1507xNK603).	Sinaloa	Experimental	0,128	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Sinaloa	Experimental	0,096	Permitida
Syngenta	GA21 (MON-00021-9)	GA21 (MON-00021-9)	Tolerancia al glifosato.	Roundup Ready	Sinaloa	Experimental	3	Permitida
Syngenta	BT11 X MIR162 X GA21 (SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x MON-00021-9)	BT11 X MIR162 X GA21 (SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x MON-00021-9)	Tolerancia a especies de insectos plaga del cultivo y tolerancia al herbicida glifosato.	SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x Roundup Ready™.	Sinaloa	Experimental	3	Permitida
Syngenta	BT11 X MIR604 X GA21 (SYN-BT011-1 X SYN-IR604-5 X MON-00021-9)	BT11 X MIR604 X GA21 (SYN-BT011-1 X SYN-IR604-5 X MON-00021-9)	Tolerancia a especies de insectos plaga del cultivo y tolerancia al herbicida glifosato.	SYN-BT011-1 x SYN-IR604-5 x Roundup Ready™.	Sinaloa	Experimental	3	Permitida

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI / Dow AgroSciences	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia al Herbicida que contiene el ingrediente activo Glifosato.	Herculex XTRA x RR2.	Sinaloa	Experimental	0,96	Permitida
PHI	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	Resistencia contra algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y con Tolerancia al herbicida que contiene el ingrediente activo Glifosato.	Herculex XTRA x RR x MON810.	Sinaloa	Experimental	0,96	Permitida
PHI	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia a los herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	HX1xMON810xRR2	Sinaloa	Experimental	0,96	En proceso
Monsanto / Dow AgroSciences	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Tamaulipas	Experimental	30	Permitida
Monsanto / Dow AgroSciences	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Tamaulipas	Experimental	30	Permitida

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

Monsanto / Dow AgroSciences	MON-89034-3 x MON-00603-6	MON-89034-3 x MON-00603-6	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YIELDGARD VT PRO/RR-2	Tamaulipas	Experimental	30	Permitida
Monsanto.	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Sinaloa	Piloto	10	Con Resolución Negativa
Monsanto.	MON-89034-3 x MON-00603-6	MON-89034-3 x MON-00603-6	Resistencia a insectos lepidópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Sinaloa	Piloto	10	Con Resolución Negativa
Monsanto.	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Sinaloa	Piloto	10	Con Resolución Negativa
PHI / Dow AgroSciences	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Tamaulipas	Experimental	0,04	Permitida
PHI / Dow AgroSciences	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	HX1xRR2 (1507xNK603)	Tamaulipas	Experimental	0,08	Permitida
PHI	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia a los herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	HX1xMON810xRR2	Tamaulipas	Experimental	0,04	Permitida

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI / Dow AgroSciences	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Coleópteros, algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	Herculex XTRAxRR2	Tamaulipas	Experimental	0,02	Permitida
PHI	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo Glifosato.	Pioneer™	Sinaloa	Piloto	10	En proceso
PHI.	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y Tolerancia a herbicidas con el ingrediente activo Glifosato.	Herculex™ 1 / Roundup Ready™ 2	Tamaulipas	Piloto	50	En Análisis de Riesgo
Monsanto..	MON-89034-3 x MON-88017-3	MON-89034-3 x MON-88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Tamaulipas	Piloto	22	En Análisis de Riesgo
Monsanto	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Tamaulipas	Piloto	22	Permitida
PHI	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y con Tolerancia a los herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	HX1 x MON810 x RR2	Chihuahua	Experimental	0,0384	En Análisis de Riesgo
PHI / Dow AgroSciences d	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Chihuahua	Experimental	0,0576	En Análisis de Riesgo

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI / Dow AgroSciences	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos Lepidópteros y con tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo Glifosato.	HX1 x RR2 (1507xNK603)	Chihuahua	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo
Syngenta.	MON-00021-9	MON-00021-9	Tolerante al herbicida glifosato.	GA21	Chihuahua	Experimental	3500	En Análisis de Riesgo
Syngenta	BT11 X MIR604 X GA21 (SYN-BT011-1 X SYN-IR604-5 X MON-00021-9)	BT11 X MIR604 X GA21 (SYN-BT011-1 X SYN)	Tolerancia a especies de insectos plaga del cultivo y tolerancia al herbicida glifosato.	BT11 x MIR604 x GA21	Chihuahua	Experimental	3500	En Análisis de Riesgo
Syngenta.	SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x MON-00021-9	SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x MON-00021-9	Tolerancia a especies de insectos plaga del cultivo y tolerancia al herbicida glifosato.	BT11 x MIR604 x GA21	Chihuahua	Experimental	3500	En Análisis de Riesgo
Syngenta.	SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x SYN-IR604-5 x MON-00021-9	SYN-BT011-1 x SYN-IR162-4 x SYN-IR604-5 x MON-00021-9	Tolerancia a especies de insectos plaga del cultivo y tolerancia al herbicida glifosato.	BT11 x MIR162 x MIR604 x GA21	Chihuahua	Experimental	3500	En Análisis de Riesgo

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI. / Dow AgroSciences	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos coleópteros, algunos insectos lepidópteros y con tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	Herculex XTRA x RR2	Coahuila y Durango	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo
PHI / Dow AgroSciences	DAS-59122-7	DAS-59122-7	Protección contra algunos insectos coleópteros.	Herculex RW (HXRW)	Coahuila y Durango	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo
PHI	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00810-6 x MON-00603-6	Protección contra algunos insectos lepidópteros y con tolerancia a los herbicidas que contienen el Ingrediente Activo Glifosato.	HX1 x Mon810 x RR2	Coahuila y Durango	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo
PHI / Dow AgroSciences.	DAS-01507-1 x MON-00603-6	DAS-01507-1 x MON-00603-6	Protección contra algunos Insectos lepidópteros y con tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	HX1xRR2 (1507xNK603)	Coahuila y Durango	Experimental	0,1024	En Análisis de Riesgo
PHI México/ Dow AgroSciences.	MON-00603-6	MON-00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Coahuila y Durango	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo
PHI	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	DAS-59122-7 x DAS-01507-1 x MON-00603-6 x MON-00810-6	Para la resistencia contra algunos insectos coleópteros, algunos insectos lepidópteros y tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	Herculex XTRA x RR x MON810	Coahuila y Durango	Experimental	0,0768	En Análisis de Riesgo

Continuación de Tabla 6. Solicitudes de permiso de liberación al ambiente de maíz genéticamente modificado que involucran resistencia a glifosato

PHI México/ Dow AgroSciences	DAS- 01507-1	DAS- 01507-1	Protección contra algunos insectos lepidópteros.	HX1 (1507)	Coahuila y Durango	Experimental	0,0512	En Análisis de Riesgo
Monsanto.	MON- 89034-3 x MON- 88017-3	MON- 89034-3 x MON- 88017-3	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YieldGard Rootworm/Roundup Ready	Chihuahua, Coahuila y Durango	Experimental	2	En Análisis de Riesgo
Monsanto.	MON- 89034-3 x MON- 00603-6	MON- 89034-3 x MON- 00603-6	Resistencia a insectos lepidópteros, coleópteros y tolerante al herbicida glifosato.	YIELDGARD VT PRO/RR-2	Chihuahua, Coahuila y Durango	Experimental	2	En Análisis de Riesgo
Monsanto.	MON- 00603-6	MON- 00603-6	Tolerancia a herbicidas que contienen el ingrediente activo glifosato.	RR2 (NK603)	Chihuahua, Coahuila y Durango	Experimental	2	En Análisis de Riesgo

Fuente: Registro Nacional de Organismos Genéticamente Modificados
(http://www.cibiogem.gob.mx/OGMs/Paginas/Solicitudes_Reg_OGMs.asp)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental fue planeado para llevarse a cabo en dos tipos de ensayos y bajo condiciones diferentes, sin propósito de comparar entre ellos.

El primer ensayo se estableció a cielo abierto y el segundo en invernadero.

El objetivo primario del presente trabajo fue demostrar que de manera operativa en una superficie relativamente pequeña, es factible evaluar una gran cantidad de materiales con el fin de conocer si presentan o no, tolerancia a glifosato, y debido a que hasta el momento no hay ningún reporte de una variedad de maíz que sea tolerante a glifosato, lo anterior podría constituirse como una prueba para la detección de resistencia inducido por medio de transgenes. Una vez que se detecten los materiales resistentes a glifosato, éstos se deberán enviar a un laboratorio especializado para llevar a cabo análisis moleculares que confirmen o nieguen la presencia de secuencias transgénicas. Recordando que la hipótesis planteada en este trabajo es que una variedad de maíz que presente resistencia a glifosato debe tener un incorporado transgen para este propósito en su ADN.

Dado que en ambos ensayos, se planteó que en caso de que hubiese sobrevivencia de plantas, después de la aplicación de glifosato, el siguiente paso sería analizar el ADN, por alguno de los métodos que se emplean para ese caso, como es la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para comprobar que los genotipos en cuestión portan el promotor 35S que los identifica como transgénicos. Lo que se llevó a cabo, enviando semilla remanente de las plantas sobrevivientes al laboratorio para su análisis.

3.1 Ensayo a cielo abierto.

Fue el ensayo más extenso en superficie y genotipos evaluados, se incluyeron 479 materiales nativos provenientes del estado de Guerrero; en todos los casos se trabajó con colectas obtenidas por personal investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), que muestrearon las diferentes regiones del estado, en altitud sobre el nivel del mar, todas comunidades representativas y maíces que son sembrados por los productores de diferentes lugares.

En las muestras de las 479 colectas, se incluían diferentes razas de maíz entre ellas: Cónico, Arrocillo, Reventador, Conejo, Vandeño, Ancho, Olotillo, Tepecintle, Pepitilla, Elotes Occidentales, en números de muestras por raza de 14 hasta más de 100 de cada una de ellas; en menor número de muestras había colectas de las razas de maíz: Onaveño, Tabloncillo Perla, Tabloncillo, Chalqueño, Zapalote Grande, Ratón, Celaya, Tuxpeño, Bolita, Tuxpeño Norteño, Elotes Cónicos. Lo anterior señala claramente la riqueza en diversidad de los maíces nativos colectados en el Estado de Guerrero e indica la importancia que tiene conocer si entre estas colectas había algunas de ellas con tolerancia al herbicida glifosato. Adicional a las 479 muestras de colectas nativas, se evaluaron 28 muestras de semilla de variedades comerciales, utilizadas en el país dando un total de 507 genotipos (Tabla 7).

Tabla 7. Material vegetativo utilizado en el ensayo a cielo abierto.

No. Surco	Nombre del material	Origen
1-1438	Variedades nativas del Estado de Guerrero	Dr. Noel Gómez (INIFAP)
1439-1441	DK 370	Monsanto
1442-1444	DK 2045	Monsanto
1445-1447	DK 357	Monsanto
1448-1450	Murano	Syngenta
1451-1453	Maximus	Syngenta
1454-1456	NB 7253	Syngenta
1457-1459	DC 1051	Syngenta
1460-1462	Búho	Monsanto
1463-1465	Leopardo	Monsanto
1466-1468	H-50	INIFAP
1469-1471	H-48	INIFAP
1472-1474	Vulcano	UNISEM
1475-1477	Hércules	UNISEM
1478-1480	H-51 AE	INIFAP
1481-1483	PUMA 1167	UNAM
1484-1486	PUMA 1075	UNAM
1487-1489	OP 2D	UNAM
1490-1492	OU 2C	UNAM
1493-1495	ASPROS-722	ASPROS
1496-1498	ASPROS-948	ASPROS
1499-1501	DK 2031	Monsanto
1502-1504	DK 2027	Monsanto
1505-1507	PUMA 1181 AE	UNAM
1508-1510	H-47 AE	INIFAP
1511-1513	Quetzal	Monsanto
1514-1516	NB-7205	Syngenta
1517-1519	Criollo Magdalena	P. Aguilar
1520-1522	Criollo Temascalcingo	P. Aguilar

La suma de las 479 muestras de semilla de colectas nativas, más las 28 muestras de semillas de variedades comerciales, se evaluaron en terrenos del Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX), dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

3.1.1 Material genético evaluado a cielo abierto

Se utilizaron 479 variedades de maíz nativo del Estado de Guerrero, así como 28 híbridos comerciales (Tabla 7). Dando un total de 507 materiales.

Las variedades nativas fueron colectadas en localidades con diferente altitud y régimen climático del estado de Guerrero, por lo que representan una muestra representativa de la diversidad de maíz actualmente sembrada en dicho Estado.

3.1.2 Localización del experimento

El experimento se llevó a cabo en terrenos bajo riego del Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX) perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en la porción oriente del Estado de México

3.1.3 Descripción climática de la localidad.

El CEVAMEX posee un clima templado-subhúmedo con lluvias en verano, el más seco de los subhúmedos, con veranos frescos y prolongados, con temperaturas medias anuales entre 12 y 18°C; la oscilación anual de las temperaturas medias mensuales es de 5 a 7°C. ; presenta un índice de precipitación media anual de 613.1 mm. Se encuentra a una altitud de 2,250 msnm.

3.1.4 Preparación de ensayo a cielo abierto

Anterior a la siembra de este ensayo se recabaron las muestras de semilla y se realizaron algunas actividades previas como son:

- a) Preparación de la semilla. La selección de la semilla se realizó, eligiendo dentro de cada muestra las mejores semillas, es decir, eliminando las semillas vanas, enfermas o fuera de tipo.

Se colocaron 100 semillas en cada uno de los tres sobres de papel preparados e identificados con el nombre que tenía cada una de las variedades.

- b) Preparación del terreno. Se efectuó un barbecho, rastreo y cruza con la finalidad de dejar el suelo mullido y sin agregados de tamaño grande a una profundidad promedio de 30 cm para facilitar la germinación de la semilla y el desarrollo de la planta.
- c) Marcado de surcos. En el terreno mullido, se surco a 60 cm de separación entre surcos, en total la superficie del experimento fue cercana a 10,000 m². Se establecieron fajas de 2.5 m de largo, con calles de 1.0 m para recorrer y tomar los datos necesarios.

3.1.5 Siembra

La siembra se realizó el 28 de agosto de 2009, en el fondo de surcos de 2.5 m x 0.6 m con tres repeticiones (Figura 2).

Se sembraron 100 semillas por surco a chorrillo procurando evitar la superposición de las simientes. Después de haber depositado las semillas en el fondo del surco, éstas fueron cubiertas con 10 cm de suelo acumulado en el lomo del surco. El tamaño de muestra cubre el número que se emplea en pruebas de germinación, de acuerdo a lo que señala la Asociación Internacional para Pruebas de Semillas (ISTA).



Figura 2. Siembra a cielo abierto. Izq.:Siembra de variedades nativas por surco. Der.: Panorámica de la parcela sembrada. Se observan las

Se aplicó un riego después de la siembra para asegurar la germinación, emergencia y buen establecimiento de las diferentes muestras de semillas de maíz.

3.1.6 Aplicación de atrazina

Se realizó una aplicación de atrazina en preemergencia al maíz para evitar la presencia y emergencia de malezas, que pudiesen interferir en la aplicación de glifosato, que es la molécula de la cual interesa conocer el efecto después de aplicarlo a las muestras de plantas de las colectas de maíz.

3.1.7 Preparación de la mezcla de herbicida glifosato

Para la preparación de la mezcla de este herbicida, se consideró la dosis recomendada de glifosato para maíz utilizando el producto comercial Faena Fuerte 360[®] que es de 3 l/ha en un volumen de 300 l. Sin embargo, debido a que la aplicación se realizó con una mochila manual a la cual se le acopló una boquilla de abanico, por ser la recomendada para la aplicación de herbicidas en bandas, el cálculo del volumen de producto que debía agregarse a la mochila se realizó de la siguiente manera.

El cálculo del volumen de producto que se agregó se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{dosis (l/ha)} \times \text{volumen del tanque (l)}}{\text{Volumen de aplicación}}$$

Dado que se contó con una mochila de aspersion con capacidad de 16 litros, una dosis recomendada de 3 l/ha y un volumen de aplicación de 300 l/ha. La fórmula anterior se resolvió de la siguiente manera:

Dosis = 3 l/ha

Volumen del tanque= 16 l

Volumen de aplicación= 300 l/ha

$$\frac{(3\text{l/ha}) \times (16\text{ l})}{300\text{ l}} = 0.16\text{ l de producto comercial}$$

Así que, se preparó un tanque de 16 l, para lo cual se agregaron 160 ml de producto comercial por cada mochila aspersora.

3.1.8 Aplicación del herbicida glifosato

La aplicación se llevó a cabo cuando las plantas estaban en la fase fenológica V4, es decir, que tenían 4 hojas verdaderas desplegadas, en otras palabras, cuando las hojas ya contaban con una lígula conspicua (hojas liguladas).

Se realizó un solo tratamiento a los tres surcos de cada variedad que consistió en la aplicación la dosis comercial para el control de malezas en maíz de 3 l/ha del producto comercial Faena Fuerte[®], de la que ya se hicieron las precisiones convenientes en el apartado anterior.

La aplicación se realizó con ayuda de una mochila de aspersion manual marca Matabi Superagro 16 a la que se le acopló una boquilla de abanico y fue calibrada con agua limpia antes de realizar la aplicación. A esta mochila aspersora se le agregó la mezcla mencionada en el apartado anterior y la aplicación se realizó caminando entre los surcos con paso constante y accionando uniformemente la palanca de la mochila con brazadas completas, con el fin de mantener la presión lo más uniforme posible.



Figura 3. 1era. aplicación de glifosato el día 23 de septiembre de 2009. Izq.: Acercamiento en el que se observa la altura de aplicación y la etapa fenológica de las plantas. Der.: Panorámica de la parcela al momento de la aplicación.

Se aseguró que el día de la aplicación las condiciones ambientales fueran adecuadas, es decir, que además de que la aplicación fuera por la mañana, se realizara durante un día soleado, con cielo despejado y sin vientos considerables que propiciaran la deriva. El día de la aplicación, no llovió por la tarde.

3.1.9 Segunda aplicación de glifosato

Debido a que en el cultivo de maíz se recomiendan dos aplicaciones de glifosato, la segunda aplicación se realizó 15 días después de la primera siguiendo la misma metodología que se menciona en los puntos 3.1.7 y 3.1.8.

3.1.10 Observación de los síntomas presentados a los 7 y 15 días después de cada aplicación

Se observaron las plantas con daños (plantas muertas), así como aquellas que pudiesen no presentar daño (plantas sobrevivientes), para así tener datos para los parámetros evaluados que se explican en el apartado siguiente.

3.1.11 Parámetros evaluados

- Número de plantas emergidas antes de la primera aplicación. Este parámetro se tomó justo antes de realizar la primera aplicación ya que se necesita tener este dato para poder realizar las frecuencias de sobrevivencia.
- Número de plantas no dañadas. Se refiere a las plantas que no presentaron síntomas de toxicidad por el herbicida glifosato, mismas que se podría inferir son tolerantes o resistentes.

Este parámetro se tomó a los 7 y 15 días después de cada aplicación.

3.2 Ensayo en invernadero

Desde la planeación de los trabajos experimentales, se consideró la realización de una segunda prueba, en la cual se involucraran un número mucho menor de materiales, que tuviesen origen en sitios de México donde se han reportado contaminaciones transgénicas, es así, que se logró conseguir cuatro muestras de semilla de materiales diferentes: tres provenientes del estado de Chihuahua y una más, del estado de Sonora los cuales se probaron junto con híbridos comerciales. (Tabla 8).

Tabla 8. Material vegetativo utilizado en el ensayo de invernadero

No. Surco	Material	Origen
1	Producers Hybrids 5930	Chihuahua
2	Quetzal	Monsanto
3	Warner Seeds W2715	Chihuahua
4	DK 2031	Monsanto
5	Pioneer 31 G66	Chihuahua
6	DK 2027	Monsanto
7	No identificado	Sonora

3.2.1 Localización del experimento

El experimento se realizó en la cama dos del invernadero cuatro de las instalaciones de la carrera de Ingeniería Agrícola de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM.

3.2.2 Descripción climática de la localidad

De acuerdo a la clasificación climática de Köpen adaptada a las condiciones de México por Enriqueta García (1981), el clima de Cuautitlán se clasifica como (Wo) (W) b (i''), denominado templado subhúmedo, el más seco de los templados subhúmedos, con una temperatura media anual de 14.8°C, con régimen de lluvias en verano y menos del 5% de lluvias en invierno, con una precipitación anual promedio de 609.2 mm.

3.2.3 Material genético evaluado en invernadero

Se utilizaron siete materiales: tres de ellos corresponden a colectas identificadas hechas después de las detecciones ilegales de maíz transgénico sembrado en el Estado de Chihuahua en el año 2008; una más, corresponde a una colecta realizada en el Estado de Sonora de la cual no se pudo obtener su identidad y; otras tres, corresponden a semillas comerciales (Tabla 8).

3.2.4 Preparación del ensayo en invernadero

La preparación de este ensayo consistió principalmente en la selección de semillas de las muestras recabadas y la colocación de 40 de estas semillas en un sobre identificado con el nombre de cada variedad.

Posteriormente se realizó una limpieza de la cama del invernadero y se realizó la preparación del terreno con ayuda de un azadón con el fin de dejar mullido el suelo. Esta remoción del suelo se realizó a una profundidad de 25 cm que son suficientes para que las semillas de maíz germinen, emerjan y posteriormente se establezcan las plantas.

También con la ayuda de un azadón se marcaron surcos con una separación entre ellos de 40 cm y de una longitud de 2.5 m.

3.2.5 Siembra

La siembra se realizó el día 4 de agosto de 2010 sobre los surcos previamente marcados que fueron de 2.5 x 0.4 m, se depositaron 40 semillas por surco utilizando el método de chorrillo cuidando que no hubiese superposición de las semillas. Posteriormente, se colocó el suelo que había quedado en el lomo del surco para cubrir las semillas, es decir, que éstas quedaron a una profundidad aproximada de 10 cm (Figura 3).



Figura 4. Detalle de siembra en cama de invernadero.

La parcela fue regada después de la siembra y cada tercer día hasta el final del experimento.

3.2.6 Aplicación del herbicida glifosato

Por ser el mismo producto utilizado que en el ensayo a cielo abierto la preparación de la mezcla para aplicar se realizó de la misma manera que en el apartado 3.1.7.

La aplicación se llevó a cabo cuando el 80% de las plantas de maíz sobre la parcela estaban en la fase fenológica V4 (4 hojas desplegadas). La dosis utilizada del herbicida comercial Faena Fuerte[®], cuyo ingrediente activo es el glifosato fue de 3 L/ha.

La aplicación se realizó con ayuda de una mochila de aspersion manual marca Matabi Superagro 16 a la que se le acopló una boquilla de abanico y fue calibrada con agua limpia antes de realizar la aplicación (Figura 4).



Figura 5. Izq.: Plantas de maíz dentro de invernadero antes de la primera aplicación. . Der.: Primera aplicación de glifosato. .

La segunda aplicación se realizó 15 días después de la primera con la misma dosis y el mismo procedimiento.

3.2.7 Parámetros evaluados.

Número de plantas emergidas antes de la primera aplicación.

Número de plantas sin daño a los 7 y 15 días después de la aplicación.

3.3 Verificación de la presencia de transgénicos

Una vez que se detectaron los genotipos que toleraron la aplicación de glifosato, fueron enviadas semillas remanentes a un laboratorio especializado que se ubica en la Red de Laboratorios de Referencia para detección de transgénicos en maíz, para su análisis en busca del promotor 35S.

El análisis fue realizado con ayuda de la Dra. Alejandra Mora Avilés adscrita al Laboratorio de Biotecnología de plantas del Campo Experimental Bajío del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por medio de una Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de punto final.

La metodología utilizada para la detección de transgenes en los materiales que toleraron la aplicación de glifosato, se presenta de manera sintetizada a continuación.

Realización de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final

Las mezclas del PCR se hicieron en tubos de 0.2 ml mezclando el ADN blanco 30-50 (ng/μl), iniciadores (0.2 μM), dNTP's (0.25 mM), Taq Polimerasa (1.5 U), cloruro de magnesio (2 mM), solución salina reguladora (buffer) (1X), y agua destilada estéril.

Los iniciadores para amplificar el promotor 35S fueron diseñados de acuerdo a las secuencias reportadas.

Las reacciones fueron amplificadas en un termociclador (Techne, TC-412) y las condiciones de amplificación son definidas de acuerdo a las especificaciones de los iniciadores de cada secuencia.

El fragmento esperado producto de la amplificación del promotor 35S es de 195 pares de bases (pb). Los fragmentos amplificados son separados por medio de geles de

agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio para visualizar el resultado de la amplificación.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del ensayo a cielo abierto

La totalidad de las plantas emergidas, es decir, 479 muestras de colectas nativas, así como 28 muestras de semilla de variedades comerciales, mismas que fueron asperjadas con el herbicida glifosato, en la dosis y etapa señaladas, mostraron síntomas contundentes de toxicidad por glifosato, desde coloración morada en las hojas del cogollo, luego clorosis y desecamiento en las puntas de las hojas, hasta llegar a una clorosis generalizada y posteriormente una necrosis total de la planta, mostrada en todas las plantas sin excepción. Es así que no se presentó sobrevivencia de las plantas tratadas.

Los síntomas se presentaron desde el sexto día después de la aplicación y continuaron hasta la muerte total de todas las plantas. Lo anterior fue una prueba clara que demostró que ningún material de los probados en esta fase es tolerante o resistente a glifosato.



Figura 5. Arriba izq.: Síntomas de toxicidad en plantas de maíz 8 días después de la 1era. aplicación. Arriba der.: Panorámica de la parcela 8 días después de la 1era. aplicación. Abajo: Panorámica de la parcela 15 días después de la 2da. aplicación, se observa la necrosis total de las plantas.

La afirmación de completa susceptibilidad en todos los genotipos procedentes de colectas nativas de Guerrero, es relevante si se toma en cuenta que se evaluó un número elevado de muestras de materiales de regiones agroecológicas muy diferentes y que representan una muestra representativa de la diversidad genética que existe en el estado de Guerrero. Como se señaló, las muestras correspondieron a diferentes razas de maíz entre ellas: Cónico, Arrocillo, Reventador, Conejo, Vandeño, Ancho, Olotillo, Tepecintle, Pepitilla, Elotes Occidentales, Onaveño, Tabloncillo Perla, Tabloncillo, Chalqueño, Zapalote Grande, Ratón, Celaya, Tuxpeño, Bolita, Tuxpeño Norteño, Elotes Cónicos, en total fueron muestras de 22 razas, de las 59 reconocidas en México (Kato *et al.*, 2009).

La susceptibilidad de todas las colectas de Guerrero, señala que en las diferentes localidades donde fue cultivada cada variedad, no se han presentado, contaminaciones con transgénicos, para tolerancia a glifosato, lo que representa una ventaja, que debería mantenerse de esta manera para bien de este cultivo y su estabilidad genética, en su centro de origen, como lo señalan diferentes autores (Kato *et al.*, 2009).

Por lo menos para el tema de esta investigación que es la infiltración ó contaminación de transgenes en los maíces nativos de Guerrero, indica que las variedades nativas colectadas y evaluadas, no tienen en su estructura genética la presencia de contaminantes para tolerancia a herbicida.

Para el experimento a cielo abierto, por no haberse registrado sobrevivencia de ninguna planta, no resultó necesario realizar un análisis molecular para detectar la presencia del 35S, ya que en ningún caso hubo tolerancia a glifosato.

Por otra parte, se confirmó que es relativamente fácil el manejo de grandes cantidades de muestras, independientemente del tamaño de muestra. En este caso se evaluaron 150,000 semillas, que se definieron en todos los casos como susceptibles. En cambio si se hubiese analizado el ADN de estas semillas, hubiese representado un elevado costo.

4.2 Resultados del ensayo en invernadero

En este ensayo se tomaron datos de emergencia de plantas, así como plantas establecidas por surco (Tabla 9), este dato se definió tomando en cuenta el número de

plantas establecidas por surco un día antes de la primera aplicación (Tabla 9) con el fin de poder calcular frecuencias de sobrevivencia posteriores.

Tabla 9. Plantas establecidas en invernadero antes de la 1era. Aplicación

Surco	Material	No. de Plantas establecidas
1	Producer Hybrids 5930	37
2	Quetzal	39
3	Warner Seeds	39
4	DK 2031	28
5	Pioneer 31 G66	41
6	DK2027	32
7	No identificado (Sonora)	40

En el caso de los materiales evaluados en invernadero, se consideraba previsible que al ser semilla de híbridos, si se llegase a presentar resistencia a glifosato expresada en la existencia de plantas sobrevivientes, sería probable que la mayoría de las plantas dentro del surco mostraran esta característica. Es decir, se estaría en presencia de semilla de híbridos transgénicos, ante lo cual el manejo se debe de llevar a cabo tal como lo establece la Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados (LBOGM), que dicta que se deben de tomar medidas de bioseguridad, tales como, la siembra confinada y a muy pequeña escala, ya que de otro modo se tendría que haber solicitado un permiso por parte de la SAGARPA para poder realizar la experimentación.

En ambos experimentos, el manejo a cielo abierto, en terreno agrícola o bien en invernadero, no tiene implicaciones, ya que el glifosato tiene efecto de contacto con el área foliar de las malezas y en este caso con los tallos y hojas del maíz, cuando se aplica. Por otra parte se descarta como factor de estudio, el tipo de suelo, lugar, temperatura, y otros aspectos, ya que este tipo de herbicida se recomienda en forma general.

Plantas sobrevivientes por surco y frecuencias de sobrevivencia.

Se contaron las plantas sobrevivientes 7 días después de la segunda aplicación (Tabla 10).

Tabla 10. Frecuencias de sobrevivencia de materiales evaluados

Surco	Material	No. de plantas sobrevivientes	Frecuencia de sobrevivencia (%)
1	Producer Hybrids 5930	0	0
2	Quetzal	0	0
3	Warner Seeds	0	0
4	DK 2031	0	0
5	Pioneer 31 G66	0	0
6	DK2027	0	0
7	No identificado (Sonora)	35	87.5

La tabla anterior refleja muy bien los resultados obtenidos en esta fase del experimento. Es contundente la diferencia en mortalidad entre los tratamientos, es decir que claramente puede observarse que el material “No identificado” proveniente de Sonora es el único que logra sobrevivir (Figura) después de las dos aplicaciones de glifosato, lo cual nos lleva a preguntarnos si este fenómeno es debido a la tolerancia natural inherente a esta variedad de maíz o a la inserción de una secuencia transgénica con esta característica.



Figura 6. Surco de plantas del material proveniente de Sonora sin daño 15 días después de la 2da.. aplicación.

Cualquiera de las posibilidades anteriores se encuentra revestida de gran importancia ya que si se tratase de tolerancia a esta molécula herbicida, sería el primer registro de la misma en maíz; sin embargo, si se tratase de resistencia transgénica, en primer lugar se comprobaría la pertinencia y utilidad de esta metodología y en segundo lugar se corroborarían los resultados de Quist y Chapela (2001), Serratos, *et al.* (2007), Pyñeiro-Nelson, *et al.* (2009), entre otros, quienes en diversas publicaciones y foros han señalado repetidamente la existencia de maíz transgénico sembrado en el territorio Nacional lo cual contradice los principios de la Ley de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados publicada en el 2005 que entre otras cosas es muy clara al señalar que cualquier actividad realizada con Organismos Genéticamente Modificados estará regulada por los organismos gubernamentales correspondientes y que antes de iniciarla se tendrá que solicitar un Permiso a la Secretaría, lo cual hace evidente que todas estas actividades deben de estar bien ubicadas e identificadas en todo el territorio Nacional.

En general, la metodología propuesta para campo e invernadero puede ofrecer la posibilidad de evaluar más de 500 materiales, con un tamaño de muestra de 300 semillas por muestra, lo que suma en total 150,000 semillas, que a diferencia de llevar a cabo el análisis del ADN, por alguno de los métodos para definir la presencia ó no de transgénicos en las muestras, representaría un elevado costo, que es inmanejable y que representaría un costo que no se podría costear. Por otro lado, debido a que México es legalmente un país donde hasta ahora no se han permitido la siembra comercial de maíces transgénicos, podría esperarse que en las muestras de las colectas, no hubiese plantas con tolerancia a glifosato.

4.3 Prueba de detección del promotor 35S por medio de PCR punto final.

Para la detección del promotor 35S, se realizó una PCR de punto en la cual el ADN de las muestra del material de Sonora fue aislado exitosamente y cuantificado por fluorimetría. La amplificación del promotor 35S indica que hay evidencia de presencia del mismo en la muestra analizada. Los controles positivos amplificaron el fragmento esperado de 195 pb y los controles negativos no amplificaron el fragmento (Figura 3).

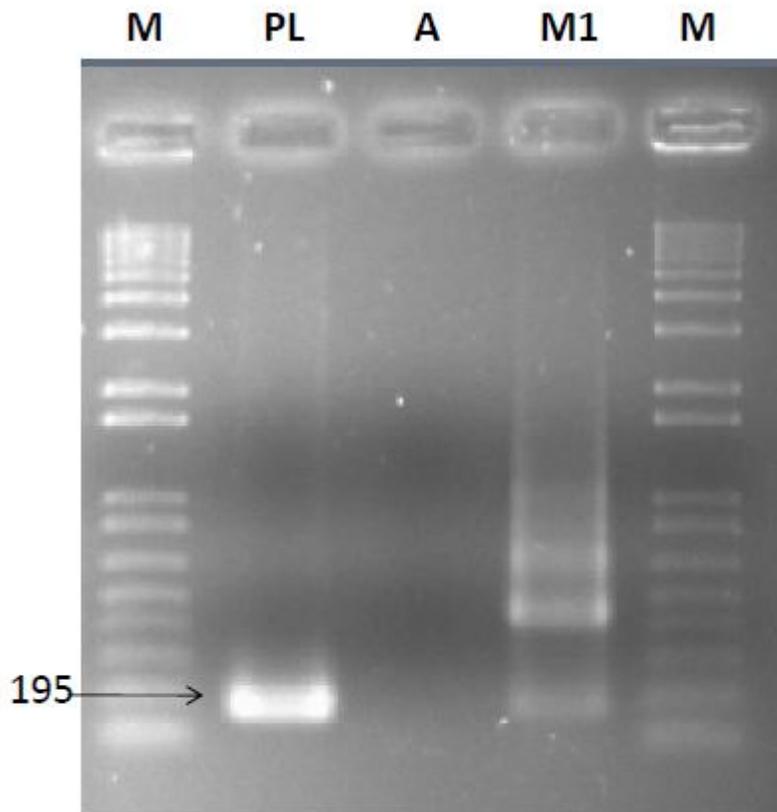


Figura 7 Amplificación por PCR Punto final de muestra de maíz para identificación del promotor 35-S. PL: Plásmido con el promotor 35-5; A: agua (control negativo); Muestra: M1; M: 1Kb Plus DNA Ladder.

Lo anterior confirma el hecho de que la sobrevivencia de las plantas del material “No identificado” proveniente de Sonora es debida a que en su genoma se ha incorporado una secuencia transgénica específica que les confiere resistencia al herbicida glifosato, lo cual indica que por medio de la aplicación de glifosato a plantas de maíz en etapa V4 es posible detectar resistencia conferida por métodos de la Ingeniería Genética.

Es importante destacar que se sometieron a la prueba más de 510 materiales diferentes en una superficie total menor a 5,000 m², y tomando en cuenta que el maíz es una planta de polinización alógama y la mayor parte de las variedades probada fueron nativas, se analizaron en total más de 140,000 individuos diferentes utilizando pocos insumos agrícolas además de la semilla con métodos y toma de datos de muy fácil realización y bajo costo por no precisar de instrumentos de medición específicos. Además, tiene una duración no mayor a 3 meses por lo que puede considerarse una Metodología rápida para detectar la presencia de resistencia en plantas de maíz.

Esta prueba debe ser considerada únicamente como una Metodología de **detección** de plantas de maíz con resistencia a glifosato y debe estar seguida de una prueba de confirmación para elucidar el origen del fenómeno encontrado en campo.

V. CONCLUSIONES

- Las colectas de variedades nativas evaluadas procedentes del Estado de Guerrero, en ningún caso, fueron resistentes al herbicida glifosato ya que mostraron fitotoxicidad completa, llegando a la muerte de las mismas, por lo que no hay evidencia de introgresión de transgenes que confieran resistencia a glifosato.
- El material “no identificado” proveniente del estado de Sonora exhibió en invernadero resistencia de las plantas ante dos aplicaciones de glifosato, ya que las plantas no mostraron ningún síntoma de fitotoxicidad, por lo cual se infiere que este material tiene incorporado un transgen que le confiere resistencia a este herbicida.
- Al analizar el material “no identificado” proveniente del estado de Sonora, para definir la presencia del promotor 35S, incluido en la mayor parte de los eventos transgénicos a nivel mundial, se confirmó la presencia de este promotor.
- La aplicación de glifosato como metodología de detección de resistencia a glifosato en maíz es una alternativa que operativamente presenta la facilidad de evaluar gran número de semillas y muestras, en forma rápida y sencilla, a bajo costo, comparativamente con respecto a efectuar el análisis por PCR de las diferentes semillas.
- En caso que los agricultores quisieran conocer si la semilla que siembran en su parcela posee transgénicos, la aplicación de glifosato a una muestra de la semilla, previa a la siembra, definiría la presencia ó ausencia de transgénicos.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Barkin David. 2007. El maíz y la economía. En: Sin maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México.
- Benbrook C. 2001. Do GM crops mean less pesticide use?. *Pesticide Outlook* 12:204-207.
- Boege, E. 2009. Centros de origen, pueblos indígenas y diversidad del maíz. *Ciencias (92-93)*: 18-28.
- Bonfil, G., en Esteva y Marielle (cords.), Sin maíz no hay país. 2007. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México, D.F.
- Bradshaw, L., S. Padgett, S. Kimball y B. Wells. 1997. Perspectives on glyphosate resistance. *Weed Technology* 11:189-198.
- CEDRSSA (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y de Soberanía Alimentaria). 2006. Biodiversidad y conocimiento tradicional en la sociedad rural. Cámara de Diputados de la República Mexicana. México, D.F.
- CEDRSSA. 2007. Maíz: Indicadores Básicos. Cámara de Diputados de la República Mexicana. México, D.F.
- CEFP (Centro de Estudios de las Finanzas Públicas). 2007. México: El mercado del maíz y la agroindustria de la tortilla. Cámara de Diputados. México. En: <http://www.cefp.gob.mx/intr/edocumentos/pdf/cefp/cefp0042007.pdf>
- COFEPRIS (Comisión Federal contra Riesgos Sanitarios). 2011. Lista de evaluación de inocuidad caso por caso de los organismos genéticamente modificados (OGM). En: <http://www.cofepris.gob.mx/work/sites/cfp/resources/LocalContent/521/3/ogm.pdf>
- CORECA (Consejo Regional de Cooperación Agrícola). 2000. La producción y comercialización de los productos transgénicos y sus implicaciones en el sector agropecuario en los países del CORECA. XIX Reunión Ordinaria. Managua, Nicaragua.
- Cruz-Hipolito, H.E. 2010. Gramíneas resistentes a herbicidas en Latinoamérica: Aspectos agronómicos, bioquímicos y moleculares. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. España.
- Dill, G. 2005. Glyphosate-resistant crops: History, status and future. *Pest Management Science*. 61:219-224.
- Dill, G., C. CaJacob y S. Padgett. 2008. Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science*. 64: 326-331.
- Doebley, J. 2003. The taxonomy of Zea. En: <http://teosinte.wisc.edu/taxonomy.html>

Dorweiler, J. y J. Doebley. 1997. Developmental analysis of teosinte glume architecture 1: a key locus in the evolution of maize (Poaceae). *American Journal of Botany* 84:1313-1322.

Dyer, G., J. Serratos-Hernández, H. Perales, P. Gepts, A. Piñeyro-Nelson, A. Chávez, N. Salinas-Arreourta, A. Yúnez-Naude, J. Taylor y E. Álvarez-Buylla. 2009. Dispersal of Transgenes through Maize Seed Systems in Mexico. *PLoS ONE* 4(5): e5734. En <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0005734>

El Economista. 2009. México emite declaratoria contra maíz transgénico. En <http://eleconomista.com.mx/notas-online/df/2009/02/25/df-emite-declaratoria-contra-maiz-transgenico>

ETC. 2003. Contaminación transgénica del maíz en México: mucho más grave. Boletín de prensa colectivo. En <http://www.etcgroup.org/en/node/148>

FAOSTAT. 2010. En: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.

Feldman, M., M. Morris y D. Hoisington. 2000. ¿Por qué suscitan tanta polémica los organismos genéticamente modificados?. CIMMYT. En: <http://www.cimmyt.org/ABC/10-FAQaboutGMos-spanish.htm>

Fernández-Perrino, F. 2006. Vegetales transgénicos: mitos y realidades des una perspectiva técnica. *Fitotecnia mexicana*. Vol. 29 (2): 95-102.

Franz, J., M. Mao y J. Sikorski. 1997. Glyphosate: A Unique Global Herbicide. American Chemical Society. USA.

Gafo, J. 2001. Aspectos científicos, jurídicos y éticos de los transgénicos. Universidad Pontificia de Comillas. España.

García, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen: para adaptarlo a las condiciones de la república mexicana. Dirección General de Publicaciones. UNAM. México.

Green, J. M. 2009. Evolution of glyphosate-resistant crop technology. *Weed Sci.* 57:108-117

GRIN (Germplasm Resources Information Network), 2010. USDA. En: www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?42207

Greenpeace, 2008. Reconoce SAGARPA contaminación con maíz transgénico en Chihuahua. En: http://www.greenpeace.org/mexico/es/Noticias/2008/Septiembre/contaminacion_transgenicos_chih/

Heap, I. 2010. Herbicide resistant crops. In: Resistencia de Plantas a Herbicidas. UACH.

Texcoco, México.

HRAC (Herbicide Resistance Action Committee). 2010. Glycines Resistant Weeds. En: <http://www.weedscience.org/Summary/UspeciesMOA.asp?lstMOAID=12>

James, C. 2010. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA Brief No. 42. ISAA, Ithaca, NY.

Jugenheimer, 1988. Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Limusa, México.

Kato, T. A., C. Mapes, L. Mera, J. A. Serratos, R. A. Bye. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. UNAM, CONABIO. México.

Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 2005. Diario Oficial de la Federación, publicado el 18 de marzo de 2008. Presidencia de la República. México, D.F.

López-Romero, G. 2005. Caracterización morfológica de poblaciones nativas de maíz del istmo de Tehuantepec, México. *Interciencia* 005 (2005): 284-290.

Mangelsdorf, P.C. *et al.* 1964. Domestication of corn. *Science* 143:538-545.

Matsuoka, Y., Y. Vogoroux, M. Goodman, J. Sánchez, E. Buckler y J. Doebley. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS* 99(6):6080-6084.

Medina, J., J. Domínguez, H. Cruz y R. De Prado. 2010. Leguminosas tolerantes a glifosato. En: *Resistencia de plantas a herbicidas*. UACH. Texcoco, México.

Mercer, K. L. y J. D. Wainwright. 2007. Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: An analysis. *Agriculture Ecosystems & Environment* en [doi:10.1016/j.agee.2007.05.007](https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.05.007)

Nelson, G. 2001. *Genetically Modified Organisms in Agriculture*. Department of Agricultural and Consumer Economics. University of Illinois. USA.

NPIC (National Pesticide Information Center). 2009. Glyphosate Technical Fact Sheet. En: <http://npic.orst.edu/factsheets/glyphotech.pdf>

Ortega-Paczka, P. 2007. El maíz como cultivo: La diversidad del maíz en México. En: *Sin maíz no hay país*. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. México.

Ortiz-García, S., E. Ezcurra, B. Schoel, F. Acevedo, J. Soberón y A. Snow. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004). *Proceedings of Natural Academy of Science USA* 102:12338-12343.

Owen, M. e I. Zelaya. 2005. Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science* 61:301-311

Piñeyro-Nelson A., J. Van Heerwaarden, H. Perales., J. Serratos-Hernández, A. Rangel, M. Hufford, P. Gepts, A. Garay-Arroyo, R. Rivera-Bustamante y E. Álvarez-Buylla. 2009. Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Molecular Ecology* 18:750-761.

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

Registro Nacional de Organismos Genéticamente Modificados. 2011. En: http://www.cibiogem.gob.mx/OGMs/Paginas/Solicitudes_Reg_OGMs.aspx

Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 2008. Diario Oficial de la Federación, publicado el 19 de marzo de 2008. Presidencia de la República. México, D.F.

Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 2009. Diario Oficial de la Federación, publicado el 16 de marzo de 2009. Presidencia de la República. México, D.F.

Reyes Castañeda P. 1990. El maíz y su cultivo. AGT Editor S.A. México, DF.

Robutti, J. 2009. Calidad y usos el maíz. INIA Pergamino. En: www.biblioteca.org.ar/libros/210719.pdf

Rosales, E. 2010. Algodón resistente a herbicidas: implicaciones agronómicas y económicas. En: Resistencia de Plantas a Herbicidas. UACH. Texcoco, México.

Saxena, D., S. Flores y G. Stotzky, 1999. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature* 40: 480.

SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria), 2011. En: www.senasica.gob.mx

Schuette, J. 1998. Environmental Fate of Glyphosate. Department of Pesticide Regulation. En: <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/glyphos.pdf>

Serratos-Hernández, J. Gómez-Olivares, N. Salinas-Arreourtua, E. Buendía-Rodríguez, F. Islas-Gutiérrez y A. De Ita. 2007. Transgenic proteins in maize in the soil conservation area of Federal District, Mexico. *Front. Ecol. Environ.* 5:257-252.

SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2009. En: www.siap.gob.mx

Thompson Paul. 2004. *Maize and Biodiversity: The Effects of Transgenic Maize in Mexico*. Capítulo dos del documento preparado como parte de la Iniciativa del Artículo 13: Maíz y biodiversidad, efectos del maíz transgénico en México. México, 2003. (www.cec.org/maize/)

Turrent F.A. y J. A. Serratos. 2004. Maize and Biodiversity: The effects of Transgenic maize in Mexico. Capítulo primero del documento preparado como parte de la Iniciativa del Artículo 13: Maíz y biodiversidad, efectos del maíz transgénico en México. México, 2003. En: www.cec.org/maize/

VanGessel, M. 2001. Glyphosate resistant horseweed from Delaware. *Weed Science* 49: 703-705.

Villalpando, R. 2007. Confirma la SAGARPA siembra de maíz transgénico en Chihuahua. *La Jornada* (22/12/2007) En:

<http://www.jornada.unam.mx/2007/12/22/index.php?section=sociedad&article=034n3soc>

Welhausen, E.J., L.M. Roberts and Efraín Hernández X. 1952. Races of Maize in Mexico. Their Origin, Characteristics and Distribution. The Bussey Institution of Harvard University. USA.

Wellhausen, E., L. Roberts, E. Hernández X. en colaboración con P. Mangelsdorf. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Folleto técnico No. 5, Oficina de Estudios Especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería, México, D.F.