



**Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Química.**

TESIS

“El patrimonio biocultural y alimentario de México en riesgo: Detección e identificación de secuencias transgénicas en variedades de maíz mexicano y alimentos derivados”.

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO DE ALIMENTOS.**

Presenta:

EDUARDO MONTEERRUBIO VÁZQUEZ.

Director de tesis:

Dr. Emmanuel González Ortega



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: MARINA GAVILANES RUIZ

VOCAL: JUAN DIEGO ORTIZ PALMA PEREZ

SECRETARIO: EMMANUEL GONZALEZ ORTEGA

1er SUPLENTE: LAURA CARMONA SALAZAR

2º SUPLENTE: OSCAR HERNANDEZ MELENDEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO DE GENÉTICA MOLECULAR, DESARROLLO Y EVOLUCIÓN DE
PLANTAS, INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Emmanuel González Ortega.

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dra. Elena Álvarez Buylla

SUSTENTANTE (S):

Eduardo Monterrubio Vázquez.

Agradecimientos Académicos.

Esta tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Emmanuel González Ortega, en el Laboratorio de Genética Molecular, Epigenética, Desarrollo y Evolución de Plantas del Instituto de Ecología, de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la coordinación académico-científica de las Dras. Elena Alvarez-Buylla Roces, Adriana Garay Arroyo, Berenice García Ponce de León y Ma. de la Paz Sánchez Jiménez, y la coordinación administrativa y logística de Diana Romo Ríos; así como el apoyo de Laura Rodríguez y la Dra. Teresa Romero, en la preparación de soluciones, medios, y materiales diversos importantes para realizar la investigación de esta tesis.

El financiamiento para insumos, secuenciación, trabajo de campo y otras actividades relevantes a esta investigación provino de los proyectos de investigación:

CONACYT: 240180, 180380, 2015-01-687 y

UNAM-DGAPA-PAPIIT: IN211516, ININ208517, IN205517, IN204217

Índice.

Abreviaturas	10
Resumen	12
Introducción.....	14
Objetivos.....	18
Hipótesis.....	18
Capítulo 1: Biodiversidad del maíz en México.....	19
1.1 Teorías del origen del maíz.....	19
1.2 Centros de origen y diversificación del maíz.....	20
1.3 Tipos de razas, variedades y localización del maíz en el territorio de la República Mexicana	22
1.4 Clasificación de las variedades de maíz.....	24
1.5 Tipos de razas de maíz por estado de la República Mexicana.....	25
1.6 Anatomía del grano de maíz.....	27
1.7 Composición nutricional del grano de maíz.....	29
1.8 Importancia del maíz en la alimentación, cultura y en la industria.....	31
1.8.1 Consumo de maíz en México.....	32
1.8.2 Cultura del maíz en México.....	32
1.9 La tortilla.....	34
1.9.1 Nixtamalización.....	35
Capítulo 2: Producción de maíz en México y en el mundo.....	37
2.1 Sistemas agrícolas tradicionales con maíz.....	37
2.2 Ciclo agrícola del maíz en México.....	38
2.3 Principales estados productores de maíz.....	40
2.4 Balance de la producción y distribución del maíz.....	41
Capítulo 3: ¿Qué es un Organismo Genéticamente Modificado (OGM)?.....	43
3.1 Definición.....	43
3.2 Componentes de un organismo transgénico.....	43
3.2.1 Promotor CaMV 35S y terminador de la transcripción T-Nos.....	44
3.3 Proceso de generación de organismos recombinantes.....	45
3.3.1 Mecanismos de selección.....	47
3.4 Tipos de maíz transgénico.....	47
3.4.1 Resistencia a insectos.....	48
3.4.2 Tolerancia a herbicidas.....	48
3.4.3 Eventos transgénicos apilados.....	49

3.5 Métodos más comúnmente usados para la detección de OGM's basados en material genético (ADN).	50
3.5.1 La reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	51
3.5.2 PCR en Tiempo Real (qPCR).	52
Capítulo 4: Situación actual del cultivo de OGM's.	55
4.1 Producción mundial (áreas de siembra de OGM y aspectos económicos).	55
4.1.1 Glifosato.	56
4.1.2 Toxicidad del glifosato en animales.....	57
4.1.3 Malezas resistentes a herbicidas.	58
4.1.4 Toxicidad del glifosato en humanos.	60
4.2 Maíz transgénico resistente a insectos.	61
4.2.1 Riesgos a la salud.....	61
4.2.2 Afectación a organismos no blanco y resistencia de insectos a las proteínas Cry.....	63
Capítulo 5: El maíz transgénico en México.	65
5.1 Antecedentes.....	65
5.2 Eventos transgénicos aprobados para consumo animal y humano en nuestro país...	65
5.3 Siembras piloto y experimental aprobadas en México.....	66
5.4 Casos reportados de presencia de maíz transgénico en México.....	68
Materiales y Métodos.....	69
Métodos.....	69
Muestras de maíz colectadas.	71
Materiales de referencia.	72
Extracción y cuantificación del DNA a partir de la harina de maíz generada.	73
Escrutinio de OGM mediante PCR en Tiempo Real (SYBR Green).	75
Consideraciones para la interpretación y el análisis de los resultados experimentales obtenidos	76
Identificación de eventos específicos de maíz mediante PCR en Tiempo Real (SYBR® Green).	77
Cuantificación de la presencia de material GM mediante PCR en tiempo real (SYBR® Green) en harina de maíz de tortillerías de la Ciudad de México.	78
Resultados.....	80
Colecta de Semillas de maíz proveniente de diversos estados de la República Mexicana (2013-2016).	80
Análisis de la presencia de los marcadores transgénicos 35S y T-Nos en las muestras de maíz proveniente de los estados de la República Mexicana.....	82

Identificación de eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras procedentes de distintos estados de la República Mexicana que resultaron positivos a los marcadores 35S y T-Nos.....	86
Monitoreo de maíz híbrido producido bajo el régimen de agricultura por contrato.....	89
Detección de los elementos transgénicos CaMV 35S y T-Nos en las muestras de maíz procedentes del estado de Nayarit.....	90
Identificación de los eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras procedentes del estado de Nayarit que previamente resultaron positivas para el escrutinio de elementos transgénicos CaMV 35s y T-Nos.....	91
Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en maíz amarillo importado de Estados Unidos.....	93
Secuencias recombinantes en muestras de harina de maíz empleada en la elaboración de tortillas comercializadas en tortillerías de la Ciudad de México.....	97
Identificación de los eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras de harina de maíz colectadas en tortillerías de la Ciudad de México.....	98
Cuantificación de OGM's en muestras de harina de maíz procedente de tortillerías de la Ciudad de México.....	101
Maíz GM en productos comerciales: alimento para mascotas.....	103
Discusión.....	105
La presencia de maíz transgénico en México.....	105
Agricultura por contrato en Nayarit: ¿Qué siembran los productores?.....	112
El maíz importado: una de las fuentes de introducción de secuencias transgénicas.....	114
El maíz transgénico en la cadena de abasto y su presencia en la industria de alimentos.....	118
El maíz GM en la industria del alimento para mascotas.....	122
Conclusiones.....	123
Bibliografía consultada.....	105
Anexo I: Distribución de razas de maíz en las zonas ecológicas relacionadas a los grupos étnicos presentes.....	144
Anexo II. Eventos transgénicos de maíz aprobados en México, Estados Unidos y Sudáfrica para consumo humano y animal.....	146
Anexo III. Casos de presencia de maíz transgénico en México.....	151
Anexo IV. Protocolo modificado de Doyle and Doyle.....	154
ANEXO V: Curvas de amplificación y temperaturas de disociación (T _m) ó Curvas de Melting para promotor CaMV 35s y terminador Nos.....	155

Índice de tablas.

Tabla 1: Tipos de razas de maíz por estado de la República Mexicana.....	26
Tabla 2: Partes del grano de maíz y su composición química.....	28
Tabla 3: Valor nutricional del maíz.....	30
Tabla 4: Usos comunes y razas nativas asociadas.....	33
Tabla 5: Composición aproximada de una tortilla (35g).....	36
Tabla 6: Producción total de maíz en México.....	40
Tabla 7: Producción de grano de maíz por estados (Ciclo agrícola OI+PV 2015).....	40
Tabla 8: Datos de importación y exportación de maíz en México por tipo de maíz.....	42
Tabla 9: Propiedades fisicoquímicas del glifosato.....	57
Tabla 10: Especies resistentes a herbicidas en México.....	58
Tabla 11: Toxicidad del Glifosato.....	60
Tabla 12: Permisos autorizados para siembras piloto y experimentales en nuestro país.....	67
Tabla 13: <i>Material de Referencia Certificado (MRC) utilizado para la detección e identificación de secuencias transgénicas</i>	73
Tabla 14: Características de Promotor 35s y T-Nos (Guía JRC).....	76
Tabla 15: Cebadores empleados para la identificación de eventos de maíz (Guía JRC).....	78
Tabla 16: Distribución de las muestras por variedad de maíz.....	81
Tabla 17: Distribución de los marcadores por tipo de maíz.....	83
Tabla 18: Muestras positivas para 35S y T-Nos por municipio.....	84
Tabla 19: Monitoreo de los eventos específicos de maíz en las muestras de granos de estados de la República previamente positivos a 35S y T-Nos.....	87
Tabla 20: Distribución de las muestras de maíz colectadas en los municipios de Nayarit de acuerdo a la variedad de maíz.....	89
Tabla 21: Distribución de muestras positivas para el marcador 35S en los municipios muestreados, de acuerdo a la variedad de maíz.....	91
Tabla 22: Resultados de los eventos transgénicos específicos por municipio.....	92
Tabla 23: Combinaciones de eventos transgénicos en las muestras de maíz híbrido de Nayarit.....	92
Tabla 24: Análisis de marcadores y eventos transgénicos de maíz en 6 conjuntos de 100 granos de maíz amarillo.....	94
Tabla 25: Distribución de los marcadores en las 100 semillas.....	95
Tabla 26: Detección de eventos transgénicos para 10 granos de maíz importado.....	95
Tabla 27: Combinaciones de eventos transgénicos en las muestras de maíz importado.....	96
Tabla 28: Número de muestras positivas a los marcadores 35S y T-Nos para las 16 delegaciones de la Ciudad de México.....	97

Tabla 29: Presencia de eventos transgénicos en muestras de harina de maíz de tortillerías.....	99
Tabla 30: Combinaciones de eventos transgénicos presentes en las muestras de harina de maíz colectada en tortillerías de las delegaciones políticas de la Ciudad de México.....	100
Tabla 31: Porcentaje de material GM en las muestras de tortillerías de la Ciudad de México.....	101
Tabla 32: Presencia de maíz transgénico en muestras de alimento para perro.....	103
Tabla 33: Combinaciones de eventos transgénicos en alimento para mascota.....	104

Índice de figuras.

Figura 1: Distribución geográfica de centros de diversidad de maíz.....	22
Figura 2: Riqueza conocida de maíces (razas de Zea mays mays) en las 6 regiones de alta diversidad de maíz.....	23
Figura 3: Partes de la semilla del maíz.....	28
Figura 4: Calendario del ciclo anual de producción de maíz.....	39
Figura 5. Partes que integran un cassette transgénico.....	44
Figura 6: Esquema de las diferentes etapas de la detección de fluorescencia en un sistema de PCR en tiempo real.....	53
Figura 7: Tendencia en la siembra de los cultivos y rasgos transgénicos.....	56
Figura 8: Total de siembras permitidas de OGM por estado (2008-2014).....	68
Figura 9: Diagrama de flujo para el proceso general empleado en la detección e identificación de secuencias transgénicas en maíz.....	70
Figura 10: Número de muestras aportadas por estado de la República Mexicana.....	80
Figura 11: Porcentaje de muestras positivas a la presencia de CaMV 35S y T-Nos.....	82
Figura 12: Porcentaje de muestras positivas al marcador transgénico CaMV 35S.....	90
Figura 13: Resultado evento-específico para las muestras de tortillerías de la CDMx.....	99

Abreviaturas

ADN: Ácido Desoxirribonucleico
β-ME: Beta Mercaptoetanol
Bt: *Bacillus thuringiensis*
CaMV 35S: Promotor 35S del Virus del Mosaico del Coliflor
CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
CINVESTAV: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Fitosanitarios
CONABIO: Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad
CTAB: Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
dNTPs: Desoxirribonucleótidos trifosfato
DOF: Diario Oficial de la Federación
EDTA: Ácido etildiaminotetraacético
EPA: Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental) de EUA
EPSPS: Enzima 5-enolpiruvil shikimato-3 fosfato sintetasa
ERM: European Reference Materials
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration) de EUA
GM: Genéticamente Modificado
ha. Hectárea
H₂O_mQ: Agua miliQ
INECC: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático
INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía
INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias
IRMM: Institute for Reference Materials and Measurements
ISAAA: Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones Agrobiotecnológicas
MgCl₂: Cloruro de Magnesio.
Mm: Milimolar (10⁻³ mol/L).
μM: Micromolar (10⁻⁶ mol/L).
% m/m: Porcentaje masa-masa
MRC: Materiales de Referencia Certificados
NaCl: Cloruro de Sodio
ng: Nanogramos (1ng= 10⁻⁹ gramos)
no-GM: No Genéticamente Modificado
OGM: Organismo Genéticamente Modificado
OMS: Organización Mundial de la Salud
OVGM: Organismo Vivo Genéticamente Modificado
O-I: Ciclo agrícola Otoño-Invierno
PAT: Enzima fosfinotricina-N-acetiltransferasa
pb: Pares de bases
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (polymerase chain reaction)
P-V: Ciclo agrícola Primavera-Verano

qPCR: PCR en Tiempo Real

RI: Resistencia a Insectos

RFU: Unidad relativa de fluorescencia

RLBOGM: Reglamento de la Ley de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

SDS: Dodecilsulfato sódico

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SENASICA: Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

Taq: ADN polimerasa de *Thermus aquaticus*

TH: Tolerancia a Herbicidas

T-Nos: Terminador de la *nopalina sintasa (nos)* de *Agrobacterium tumefaciens*

Tris-HCl: clorhidrato de tris (hidroximetil) aminometano

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

USDA: United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de Estados Unidos)

Resumen

México es el centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, lo que otorga a este cultivo una gran importancia a nivel agrícola, alimentario, económico, social y cultural. El cultivo de maíz ocupa el cuarto lugar en la producción mundial de granos y es la actividad agrícola más importante de México, ya que su producción representa 85% del volumen nacional de cereales. Además, este grano es base en la dieta de nuestro país, lo que se evidencia en los 600 platillos elaborados a base de maíz: el consumo *per cápita* de maíz es de 123 Kg/año, mientras que a nivel mundial es de 16.8 Kg/año.

En la actualidad, 28 países han plantado cultivos transgénicos, ocupando un área de siembra de 179.7 millones de hectáreas; además de que se han aprobado 357 eventos transgénicos que cubren 27 cultivos genéticamente modificados (GM) que han sido autorizados para alimentación humana y animal en 65 países. Para el caso particular del maíz, en el mundo se encuentran disponibles comercialmente 143 eventos de maíz genéticamente modificado para expresar diversos rasgos, la gran mayoría (n=121) corresponden a maíz con el rasgo de tolerancia a herbicidas, ya sea de manera individual o en líneas que contienen distintos transgenes (eventos transgénicos apilados); mientras que 115 variedades de maíz presentan el rasgo de resistencia a insectos de manera individual o en variedades apiladas. En México se han aprobado 68 eventos transgénicos de maíz para alimentación humana y animal.

En el año 2001 se reportó por primera vez la presencia de maíz transgénico en el estado de Oaxaca, noticia de gran relevancia debido al riesgo potencial a la biodiversidad del maíz en México. La presencia de maíz GM en Oaxaca fue confirmada en estudios posteriores (Piñeyro et al., 2009); además de que en otros estudios también se detectó la presencia de maíz transgénico en estados de la República tales como: Ciudad de México, Veracruz, Chiapas, Michoacán, entre otros.

El maíz es un componente fundamental del patrimonio biocultural de nuestro país. El maíz no solo es un recurso natural más, es parte de un sistema que entrelaza y está presente de manera transversal en la economía, la alimentación y la cultura. La diversidad de variedades de maíz existente en todo el territorio de México es por sí sola una expresión tangible de los diálogos e interacciones complejas entre las comunidades indígenas, rurales y campesinas del país y su situación social, el entorno geográfico, las distintas condiciones ambientales, de manera que al día de hoy el maíz continúa siendo un componente primario y fundamental en el desarrollo del pueblo mexicano.

En el presente trabajo se determinó mediante PCR Tiempo Real (qPCR) la presencia de secuencias recombinantes (transgénicas) en muestras de maíces criollos e híbridos, procedentes de distintos estados de la República Mexicana. Se analizaron también muestras de maíz híbrido colectadas en predios agrícolas de distintos municipios del estado de Nayarit, en donde se produce maíz mediante agricultura por contrato, impulsada principalmente por compañías semilleras privadas. También se analizaron muestras de grano de maíz procedentes de los Estados Unidos a través de empresas comercializadoras de granos. Adicionalmente, se determinó la presencia de secuencias transgénicas en harina de maíz con la que se elaboran tortillas a partir de una colecta de harina de maíz en tortillerías ubicadas en distintos puntos de la Ciudad de México. Finalmente se analizaron muestras comerciales de alimento comercial para mascotas con el fin de determinar si estaban elaboradas con maíz GM.

Este trabajo pretende actualizar la información disponible sobre la presencia de secuencias transgénicas en maíz a partir de muestreos puntuales y no sistematizados, colectados en diferentes estados de la República y en productos alimentarios que se distribuyen de manera comercial en nuestro país.

Introducción.

“Nuestra historia de la creación nos enseña que los primeros abuelos de nuestra gente fueron hechos de maíz blanco y amarillo. El maíz es sagrado para nosotros porque nos conecta con nuestros antepasados y alimenta nuestro espíritu al igual que a nuestros cuerpos”. - Juana Batz Puac.

Es el maíz el grano que más se produce en el mundo (FIRA, 2015). Debido a sus cualidades nutritivas, se ha convertido en uno de los productos más influyentes en los mercados internacionales. Su importancia económica y social es relevante, pues su producción se realiza en un número de países superior al de cualquier otro cultivo, además de ser fuente de empleo y alimento para un gran número de personas en el mundo (FIRA, 2015). México es centro de origen y diversidad genética del maíz y del 15,4% de las principales especies que utiliza actualmente el sistema alimentario mundial (Barrera-Bassols et al., 2009). En México, más de 5.5 millones de personas se dedican a la agricultura (INEGI-SAGARPA, 2015); y alrededor de 3.8 millones de agricultores producen anualmente más de 23 millones de toneladas de maíz, que equivalen al 60% del total de granos producidos en el país, utilizando 8.5 millones de hectáreas; en donde el 75% de los productores siembran variedades nativas (Trejo, 2014). El consumo *per cápita* de maíz es de 123 Kg/año, cifra muy superior al promedio mundial *per cápita*, que es de 16.8 Kg/año (Trejo, 2014).

El maíz nativo de México constituye un elemento fundacional y fundamental de las culturas mexicanas, particularmente la de los campesinos e indígenas, pues en su cosmovisión, el maíz representa la fuente material y espiritual de su sustento. Esto es, para estos pueblos el maíz nativo es un bien común y en él se expresa su recurso inmaterial más importante: la memoria colectiva hoy llamada biocultural (Martínez, 2014). Esta interacción entre el maíz y los pueblos indígenas ha derivado en el surgimiento de 65 (Cárcamo et al., 2011) razas, 59 cotejadas (Turrent et al., 2010) y 6 imprecisas de maíces nativos (Serratos, 2009), que expresan la memoria colectiva del pueblo mexicano.

La materialización de la memoria y prácticas colectivas de las sociedades humanas en los diferentes territorios es lo que se ha denominado como “patrimonio biocultural”, el cual engloba de manera inexorable 4 elementos: a) el territorio, b) los recursos naturales bióticos intervenidos en distintos grados, c) el conocimiento ecológico local, el cuerpo de conocimientos, creencias, tradiciones, prácticas, instituciones y puntos de vista que desarrollan las personas en su interacción con el ambiente (Álvarez et al., 2016); y d) agroecosistemas tradicionales, como la expresión de la diversidad biológica domesticada (Martínez, 2014).

El maíz es considerado patrimonio biocultural debido a que es un recurso que el pueblo ha adaptado y que se emplea en varios aspectos, desde el alimentario hasta el religioso. La existencia de los pueblos indígenas resulta estratégica para la conservación *in situ* de este patrimonio biocultural, ya que posibilita la continuidad de los procesos evolutivos que generan germoplasma nuevo en condiciones de selección natural, posibilita la generación de nuevos esquemas de participación social en los procesos de toma de decisiones, constituye fuentes para las colecciones *ex situ* y promueve la generación de usos para el maíz, que van desde platillos hasta aplicaciones medicinales (Martínez, 2014).

El patrimonio biocultural materializado en el maíz se manifiesta en múltiples maneras: en la diversidad de razas existentes, la forma de cultivo, de productos alimenticios, etc. La milpa ejemplifica una materialización del patrimonio biocultural de gran alcance, debido a que es el sistema agroecológico base de la alimentación en Mesoamérica e incluye además de la planta del maíz, diferentes variedades de frijol, calabaza, chiles y jitomate, así como tomate verde, amaranto, chilacayote, nopal, aguacate, verdolaga, chayote y pitaya (Acevedo-Gassman et al., 2009), fauna alimenticia (aves, mamíferos e insectos principalmente), plantas medicinales, hongos, leña y algunos otros productos (Álvarez et al., 2016). Esta es una unidad de producción agrícola que forma parte fundamental de la estrategia de uso múltiple que aspira a la autosuficiencia y a la soberanía alimentaria, que fue implementada por los antiguos pueblos mesoamericanos y que ha llegado en diferentes grados

hasta nuestros días a través de los pueblos indígenas y campesinos de hoy, dentro de un mosaico compuesto por diversos territorios espaciales y simbólicos para la edificación de un paisaje cultural y una historia social y natural. En el campo de lo simbólico, el hombre de estas latitudes construyó a partir del maíz una cultura maicera y milpera de profundas raíces, perceptible a simple vista en las diferentes construcciones antropogénicas, como dan cuenta las expresiones de las culturas mexicanas en la cosmovisión, la religión, la filosofía, la literatura, la poesía, la música, el arte, la sabiduría popular, la tecnología y muy especialmente la gastronomía (Martínez, 2014).

Considerando esta conceptualización sobre el patrimonio biocultural, puede considerarse que la agricultura industrializada, en la que la utilización de paquetes tecnológicos tales como los cultivos GM y agroquímicos asociados son un referente real y actual, representa una grave amenaza para los sistemas de producción agroecológicos, que tienen como base a las distintas expresiones del patrimonio biocultural, tales como las distintas variedades de maíz existentes en todo el territorio mexicano, que son la base de la alimentación de los pueblos de México, y uno de los cereales que sostienen la seguridad alimentaria a nivel mundial.

El maíz genéticamente modificado o maíz transgénico es aquel en el que, mediante tecnología de ADN recombinante, se han insertado uno o varios genes o construcciones recombinantes que en conjunto expresan proteínas de interés biotecnológico, o afectan vías metabólicas para dar lugar a características de interés agronómico, alimentario o industrial (Key, et al., 2008). Hasta la fecha se han desarrollado en el mundo 143 eventos de maíz con distintas características agronómicas y/o de producción (ISAAA, 2015d). Un evento de transformación es la recombinación o inserción particular de ADN ocurrida en una célula vegetal, a partir de la cual se origina una planta transgénica completa (Arleo M., 2015).

Existen diversas variedades de cultivos transgénicos (incluyendo al maíz transgénico), tales como las que se les ha insertado el rasgo de resistencia a insectos (p.e. coleópteros, lepidópteros), las que proporcionan tolerancia a

herbicidas (p.e. glufosinato de amonio, glifosato, 2-4D) y aquellas con modificaciones que teóricamente permiten aumentar o hacer más eficientes procesos industriales (p. e. la producción de etanol), para conferir esterilidad masculina, para la restauración de la fertilidad y para la resistencia a antibióticos (ISAAA, 2015).

En 2001, un estudio realizado por científicos de la Universidad de Berkeley reveló la presencia de maíz GM en la Sierra Juárez de Oaxaca (Quist & Chapela, 2001). Estudios posteriores de Serratos, Dyer, Piñeyro-Nelson et al. (2009) confirmaron la presencia de secuencias transgénicas en variedades de maíz nativo no solo en la zona monitoreada por Quist & Chapela, sino en otros estados de la República, tales como Ciudad de México Chihuahua, Morelos, Durango, Oaxaca, Tlaxcala, Puebla, Michoacán, Tamaulipas, Estado de México, Veracruz y Chiapas (Mercer & Wainwright, 2008; INECC, 2015).

Objetivos.

Objetivo general:

Detectar e identificar la presencia de secuencias transgénicas en muestras de maíz criollo e híbrido, proveniente de distintos estados de la República Mexicana.

Objetivos particulares:

- 1.- Determinar la presencia de maíz transgénico en muestras de distintos estados de la República Mexicana, mediante la técnica de PCR en Tiempo Real.
2. Realizar un escrutinio de maíz transgénico mediante la detección de las secuencias correspondientes al promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (CaMV) y del terminador Nos (T-Nos).
3. Determinar la frecuencia de secuencias recombinantes presentes en una muestra de grano de maíz importado.
4. Identificar la presencia de eventos transgénicos específicos de maíz en tortillas elaboradas de manera industrial y en alimento comercial para mascotas.

Hipótesis.

México importa aproximadamente 11 millones de toneladas de grano de maíz viable principalmente de Estados Unidos. En ese país no se segrega el maíz transgénico del que no lo es y en México actualmente no existe un control sobre el destino de dichas importaciones. Adicionalmente, en México se han autorizado 68 eventos de maíz transgénico para consumo humano y animal. Se encontrarán secuencias transgénicas en variedades de maíz criollas e híbridas en el campo mexicano; así como el uso de maíz GM en la cadena de abasto para la elaboración de alimentos comerciales en nuestro país.

Capítulo 1: Biodiversidad del maíz en México.

El invento del maíz por los mexicanos, sólo es comparable con el invento del fuego por el hombre. – Octavio Paz.

1.1 Teorías del origen del maíz.

Desde el punto de vista científico, las investigaciones y teorías sobre el origen del maíz se remontan al siglo XIX y no han concluido hasta la fecha (Cárcamo et al., 2011). Hay diversas teorías sobre el origen del maíz; por lo que se mencionarán las más importantes:

- Evolución progresiva: Propone que el teocintle anual mexicano fue el ancestro del maíz cultivado actualmente, debido principalmente a la intervención humana (Kato et al., 2009).
- Teoría tripartita: La teoría tripartita 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).
- Teoría multicéntrica: Propone que el maíz tuvo un origen multicéntrico, es decir, que existieron diversos centros de domesticación a partir de varias poblaciones de teocintle hace 8,000 años. Se determinan 5 centros de domesticación: a) Mesa central de México, b) Región de altura media en los estados de Morelos, México, Guerrero y sus alrededores, c) Región centro-norte de Oaxaca, d) El territorio comprendido entre los estados de Oaxaca y Chiapas; y e) La región alta de Guatemala (Sánchez, 2011).

- Teoría unicéntrica o teoría del evento único: Propone que las poblaciones del teocintle de la raza *Balsas* o subespecie (*ssp.*) *parviglumis* localizadas en el centro de la cuenca de Balsas (Oriente de Michoacán, suroeste del Estado de México y norte de Guerrero) dieron origen al maíz (Sánchez, 2011).

Un alto número de investigadores como Kato y colaboradores (2009) han concluido que el maíz se originó simultáneamente en diversas regiones, siendo producto de varias poblaciones de teocintles; por lo que la teoría multicéntrica es la más aceptada como la que dio origen al maíz.

1.2 Centros de origen y diversificación del maíz.

Un centro de origen se define como: una zona geográfica en donde se encuentra el máximo de diversidad del cultivo y coexisten o coexistieron sus parientes silvestres (Vavilov, 1926). Los centros de origen y de domesticación de las especies suelen concentrar y conservar la mayor parte de la diversidad de un *pool* genético determinado, por ello su conservación tiene un papel fundamental para la subsistencia de la especie (Engels et al., 2005).

Los principales criterios para definir los centros de origen y diversificación genética, son:

- 1) 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 las especies vegetales, recalando así la importancia de la participación de los pueblos, en especial, los indígenas en este proceso (Sánchez Mendoza S.M., 2011).

El maíz fue domesticado hace aproximadamente entre 6.000-10.000 años en el suroeste de México (Perales H., Golicher, 2014). En la domesticación acontecen progresivamente una serie de cambios morfológicos y fisiológicos, conocidos en su conjunto como el síndrome de domesticación, que favorecen la adaptación de las poblaciones silvestres fundadoras al medio ambiente de cultivo y la dependencia de éstas al hombre para su supervivencia (Chacón Sánchez M. I., 2009). Probablemente se domesticó el maíz en la región de la cuenca de Balsas, en las entidades federativas de Michoacán y Guerrero, a partir del teocintle *Zea mays ssp. parviglumis*, y la dispersión de este cultivo fue probablemente promovida por el uso de las cuencas de los ríos, como la del complejo hidrológico Tepalcatepec-Balsas-Mexcala, así como corredores biológicos y culturales para los grupos humanos durante el Holoceno Temprano (Breña Ochoa A., 2013).

Estudios recientes que usaron como base la composición racial del maíz, plantean la existencia de 11 regiones biogeográficas de maíz, en donde, seis de estas regiones son centros de diversidad y en su conjunto contienen 38 razas de maíz. Estos seis centros coinciden con las cuatro regiones de diversificación que Kato (2009) plantea para el maíz en México (Perales H., Golicher D., 2014).



Figura 1: Distribución geográfica de centros de diversidad de maíz: 1) Complejo de Chiapas, 2) Valles y Sierras de Oaxaca, 3) Cordillera Occidental, 4) Meseta Central, 5) Sierras Noroccidentales, 6) Cañones Chihuahuenses, 7) Meseta del Norte, 8) Llanuras del Golfo y del Istmo, 9) Península de Yucatán, 10) Bajío y 11) Baja California y Noroeste (Perales H., Golicher D., 2014).

1.3 Tipos de razas, variedades y localización del maíz en el territorio de la República Mexicana.

Entre los aspectos más representativos que favorecieron la diversidad del maíz está la amplia variación geográfica y ambiental del territorio mexicano (el clima, la temperatura, el tipo de suelo, altitud), la cual fue propicia para el crecimiento de este cultivo; además de las propiedades mismas del maíz, tales como el hecho de que es una especie de polinización abierta y que presenta la mayor variación genética conocida dentro de los cultivos agrícolas que contribuyeron a la diversificación (INECONABIO-SAGARPA, 2008). La abundancia de variedades autóctonas de maíz en México se debe en parte al proceso de selección tanto por los agricultores como por factores ambientales (Perales H., Golicher D., 2014). De acuerdo con la clasificación más reciente basada en características morfológicas e isoenzimáticas, México es centro de origen, domesticación y diversificación del maíz de 59 razas, que representan un significativo porcentaje de las 220 a 300 razas de maíz existentes en el continente americano (Fernández et al., 2013). En la Figura 2 se observan las

6 principales áreas de diversidad y regiones biogeográficas para las razas de maíz en México, propuestas por Perales y Golicher (2014).

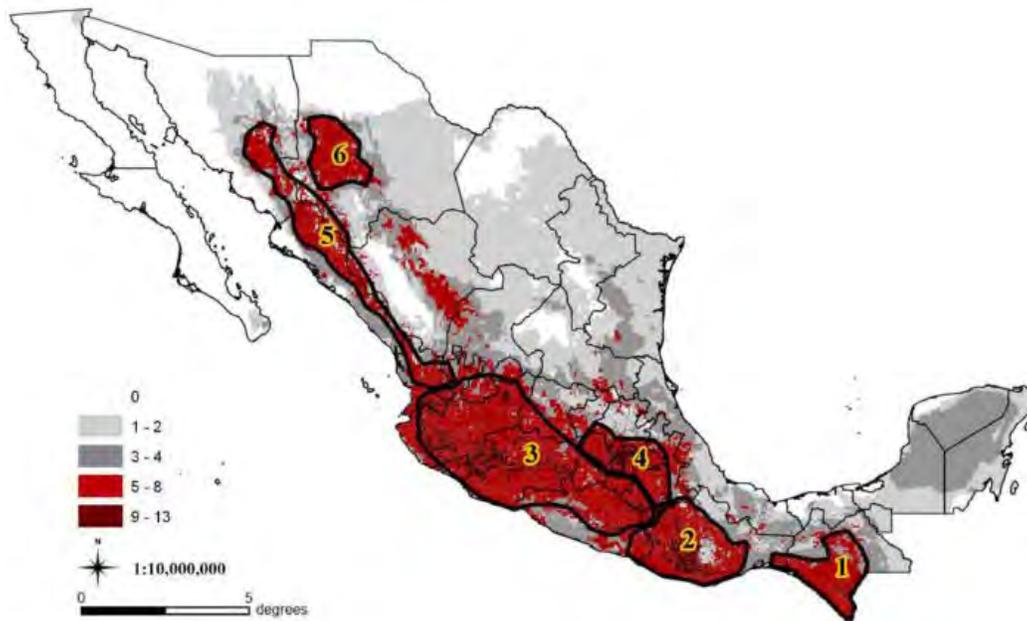


Figura 2: Riqueza conocida de maíces (razas de *Zea mays mays*) en las 6 regiones de alta diversidad de maíz. Fuente: (Perales H., Golicher D., 2014).

Un factor crucial para la diversidad existente de maíces en nuestro país fue la presencia de los agricultores, los cuales lograron obtener especies con cualidades deseadas que hasta la fecha perduran. Además, existe una relación geográfica entre la concentración de las poblaciones indígenas y las variedades criollas de maíz. Los 62 grupos étnicos de México cultivan razas nativas agrónomicamente adaptadas y mejoradas en su calidad de grano para diferentes usos alimenticios, siendo estos grupos étnicos herederos y operadores de la diversidad genética del maíz; su ubicación geográfica se correlaciona con la de las 59 razas nativas de maíz (Turrent et al., 2010) y su cultivo no es sólo una forma de asegurarse la subsistencia material, sino también parte de un proceso cultural y social más profundo. Aproximadamente 60% de los productores de maíz son indígenas (Turrent et al., 2010). En el ANEXO I se presenta la relación entre los grupos indígenas con las variedades de maíz existentes en nuestro país.

1.4 Clasificación de las variedades de maíz.

Las casi 200 generaciones de habitantes de Mesoamérica que han transcurrido desde la domesticación del maíz hace unos 6250 años, han desarrollado prácticas que se denominan como mejoramiento genético autóctono de maíz (MGAM) (Fernández A.T. et al., 2009). Entre estas prácticas están: a) Mantener diferenciados varios tipos de maíz en sus predios (por color, textura de grano, ciclo de desarrollo, razas, utilización culinaria o ritual) para varios usos específicos; b) Intercambiar selectivamente sus semillas entre vecinos; c) Introducir semillas de maíces alopátricos, a veces desde grandes distancias, y mezclarlas con las propias para favorecer su cruzamiento (ruta “semilla-polen”) y así introducir nuevos alelos que amplían la diversidad en la población; d) Observar el desempeño de las plantas en el campo, donde son expuestas a los agobios bióticos y abióticos de su parcela; y e) Someter las mazorcas y semillas a selección visual en el granero, según su uso específico, con intervención fundamental de las mujeres. La interacción genética entre maíces nativos y materiales genéticos alopátricos ha acompañado al desarrollo de la diversidad genética en México desde tiempos inmemoriales (Turrent-Fernández A. et al., 2010).

Todas las prácticas empleadas por nuestros antepasados y que siguen desarrollándose en la actualidad han llegado a generar una gran diversidad de maíz, la cual se ha intentado clasificar por grupos. Actualmente hay una clasificación muy detallada de las razas y variedades mexicanas, con suficientes características en común como para permitir su reconocimiento.

Los grupos definidos son:

- 1) Antiguas Indígenas: Palomero, Toluqueño, Arrocillo-Amarillo, Chapalote, Nal-tel. Estas razas tienen en común las siguientes características: endospermo tipo reventador y mazorcas pequeñas.
- 2) Razas Exóticas Precolombinas: procedentes de Centro y Sudamérica: Cacahuacintle, Harinoso de ocho, Olotón, Elotes occidentales y Maíz Dulce. Se caracterizan por tener granos grandes y harinosos, de color blanco, excepto para algunos genotipos de maíz dulce.

- 3) Razas Mestizas Prehistóricas: Son resultado del cruzamiento de las anteriores y la introgresión de teocintle como son Cónico, Reventador, Tabloncillo, Tehua, Tepecintle, Dzit-Bacal, Zapalote Chico, Zapalote, Tuxpeño, Pepitilla, Comiteco, Jala, Olotillo y Vandeño.
- 4) Razas Modernas Incipientes: Éstas se han desarrollado a partir de la Conquista y son, Bolita, Chalqueño, Celaya y Cónico Norteño.
- 5) Razas generadas por el nomadismo: Hay otras clasificaciones generadas por el aislamiento geográfico y el rompimiento de la monotonía de los usos alimentarios, como Apachito, Azul, Gordo, Bofo y Tablilla de ocho.
- 6) Razas recientemente clasificadas: Estas son Ratón, Tuxpeño Norteño, Onaveño, Cristalino de Chihuahua y Palomero de Chihuahua, Chatino, Maizón, Mixeño, Chiapaneco, Mixteco y Serrano Mixe, Zamorano Amarillo, Mushito, Dulcillo del Noroeste y Blandito, Coscomatepec, Motozinteco y Elotero de Sinaloa (Cárcamo et al., 2011).

Sumando las 54 razas anteriores, más siete razas no bien definidas y cuatro consideradas como sub-razas, suman un total de 65 razas. La anterior es una de las tantas clasificaciones que se tienen del maíz, y tanto el número como la clasificación varían entre autores, por ejemplo, actualmente se considera que existen en el continente americano entre 220 y 300 razas de maíz (Kato et al., 2009); en México, según diferentes autores e instituciones se salvaguardan entre 41 (Ortega-Paczka et al., 1991), 59 (Turrent et al., 2010) o 65 (Cárcamo et al., 2011) diferentes razas.

1.5 Tipos de razas de maíz por estado de la República Mexicana.

La biodiversidad de maíz ha sido la base para una continua selección inducida por los propios agricultores, en busca siempre de mejorar su alimentación, lo cual coadyuva a una evolución continua, mejorando el rendimiento y otras características agronómicas, ganando especificidad para sus nichos ecológicos con selección natural para usos especiales (INE-CONABIO-INIFAP-2008b). A lo anterior, algunos autores lo denominan como “corredor genético”, el cual, se da entre los diferentes

grupos raciales del maíz. Es decir, que la infiltración genética entre los diferentes materiales de maíz ha existido en el transcurso del tiempo hasta la actualidad, condición que no impide a los materiales seguir cubriendo las necesidades y conveniencias de los grupos étnicos que los utilizan, conservando así sus atributos fenotípicos (INE-INIFAP-CONABIO, 2009). Este corredor genético mediado por agricultores y por la naturaleza misma, ha producido diversas variedades de maíces que se distribuyen en todo el país. En la tabla 1, se muestran las principales razas de maíz que se pueden encontrar en varios estados de nuestro país.

Tabla 1: Tipos de razas de maíz por estado de la República Mexicana.

Estado	Razas
Aguascalientes	Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Cónicos.
Chiapas	Tuxpeño, Olotillo, Tehua, Comiteco, Olotón, Tepecintle.
Chihuahua	Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Tabloncillo, Reventador, Bolita, Maíz dulce, Harinoso de ocho, Palomero, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Tuxpeño Norteño, Azul, Blandito, Gordo, Tehua, Apachito, Maizón.
Durango	Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Occidentales, Tabloncillo, Reventador, Tabloncillo Perla, Bolita, Pepitilla, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Bofo, Blandito Sonora, Blandito, Cristalino de Chihuahua, Gordo, Tablilla, Tunicata.
Estado de México	Cónico, Chalqueño, Cacahuacintle, Palomero Toluqueño, Elotes Cónicos, Cónico Norteño, Tuxpeño, Palomero, Bolita, Celaya, Arrocillo, Pepitilla, Ancho.
Guanajuato	Celaya, Cónico Norteño, Elotes Occidentales, Maíz Dulce, Cónico, Elotes Cónicos, Tabloncillo, Palomero, Pepitilla, Tuxpeño, Chalqueño, Tuxpeño Norteño, Ancho, Bolita, Amarillo Zamorano.
Hidalgo	Chalqueño, Cónico, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Tuxpeño, Tabloncillo, Celaya, Arrocillo, Mushito, Cacahuacintle, Olotillo.
Jalisco	Ancho, Bofo, Celaya, Dulce, Elotes Occidentales, Elotero de Sinaloa, Pepitilla, Reventador, Tabloncillo, Tuxpeño.
Michoacán	Celaya, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Mushito, Tabloncillo.
Nayarit	Jala, Vandeño, Maíz Dulce, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Reventador, Elotes Occidentales, Olotillo, Tuxpeño, Tablilla de Ocho, Bofo, Celaya, Cónico Norteño, Harinoso de Ocho.
Oaxaca	Ancho, Arrocillo, Bolita, Celaya, Chalqueño, Chiquito, Comiteco, Conejo, Cónico, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Mixeño, Mixteco, Mushito, Nal-Tel, Nal-Tel de Altura, Negro de Tierra Fría, Negro Mixteco, Olotillo, Olotón, Olotón Imbricado, Palomero Toluqueño, Pepitilla, Serrano, Serrano de Oaxaca, Serrano Mixe, Tabloncillo, Tehua, Tepecintle, Tuxpeño, Vandeño, Zamorano, Zapalote Chico y Zapalote Grande.
Querétaro	Celaya, Cónico Norteño, Elotes Cónicos, Cónico, Ratón.
San Luis Potosí	Celaya, Cónico Norteño, Elotes Occidentales, Cónico, Tabloncillo, Tuxpeño, Chalqueño, Dzit Bacal, Nal tel, Olotillo, Harinoso de Ocho.

Sinaloa	Chapalote, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Blandito de Sonora, Reventador, Tuxpeño, Dulcillo del Noroeste, Onaveño, Maíz Dulce, San Juan, Lady Finger, Harinoso.
Sonora	Jala, Chapalote, Dulcillo de Sonora, Dulcillo del noroeste, Onaveño, Blando de Sonora, Harinoso de Ocho, Elotero de Sinaloa, Reventador, Tabloncillo, Tuxpeño, Tablilla de Ocho, Bofo.
Tamaulipas	Tuxpeño y Tuxpeño Norteño.
Tlaxcala	Chalqueño, Cónico, Cacahuacintle, Arrocillo, Elotes Cónicos, Palomero Toluqueño.
Yucatán	Nal tel.
Zacatecas	Celaya, Cónico, Cónico Norteño, Chalqueño, Elotes Occidentales, Elotes Cónicos, Tabloncillo, Bolita, Maíz Dulce, San Juan, Dulcillo del Noroeste, Bofo, Tablilla.

Fuente: (INIFAP-CONABIO, 2010), (INE-INIFAP-CONABIO, 2009), (CONABIO-INIFAP, 2005), (INE-CONABIO-INIFAP, 2008c), (INE-CONABIO-INIFAP, 2008b).

1.6 Anatomía del grano de maíz.

El fruto de la planta del maíz se llama comercialmente grano; botánicamente es una cariósida y agrícolamente se le conoce como semilla, se compone de las siguientes partes:

Pericarpio: Comprende el 6% del grano, es la cubierta del fruto, de origen materno, se conoce como testa, hollejo o cáscara. El pericarpio contiene almidón, grasa, proteína, cenizas, azúcares y fibra.

Aleurona: Capa de células del endospermo, de naturaleza proteica.

Endospermo: Comprende el 82% del grano, y es el tejido de reserva de la semilla que alimenta al embrión durante la germinación. Hay dos regiones muy diferenciadas: el endospermo suave o harinoso, y el duro o endospermo vítreo; la proporción de estos depende de la variedad del maíz. En el endospermo se encuentra la mayor cantidad del almidón (el 86.6% promedio del almidón total del grano) y contiene, además las proteínas: albúminas, globulinas, prolamina y glutelina, así como escasas cantidades de grasa, ceniza y azúcares.

Embrión: Contiene el escutelo, cubre al eje embrionario y contiene reservas de lípidos.

Eje embrionario o germen: Es la estructura de donde se origina una nueva planta al germinar la semilla, y abarca el 12% de la semilla. El embrión contiene la mayor cantidad de grasa del grano (34.4%), además de almidón, ceniza y azúcares.

Biológicamente, éste tiene más valor nutritivo en las proteínas: albúmina, globulina, glutelinas y es escaso en zeína.

Capa terminal: Parte que se une al olote, con una estructura esponjosa, adaptada para la rápida absorción de humedad. Entre esta capa y la base del germen se encuentra un tejido conocido como capa capilar, la cual funciona como una estructura sellante durante la maduración del grano (Rodríguez, 2013).

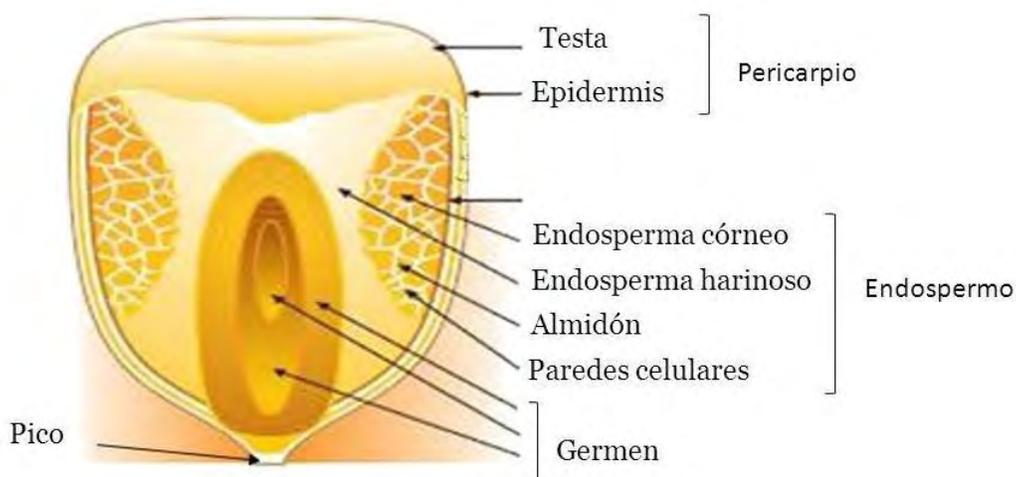


Figura 3: Partes de la semilla del maíz. Fuente: <http://delmaiz.info/caracteristicas/>

En la Tabla 2, se presenta la composición química del grano de maíz de acuerdo a las principales partes que lo constituyen.

Tabla 2: Partes del grano de maíz y su composición química.

Partes	Base seca en el grano (%)	Grasa (%)	Almidón (%)	Proteínas (%)	Cenizas (%)	Azúcares (%)
Germen	11.5±1.6	34.4±4.5	8.3±3.2	18.5±1.5	10.3±1	11±1.5
Endospermo	82.3±2	0.86±0.24	86.6±2.7	8.6±2.5	0.31±0.15	0.61±0.21
Capa terminal	0.8±0.3	3.8±0.1	5.3	9.7±1	1.7±0.3	1.5
Pericarpio	5.3±0.9	0.98±0.28	7.3±3.8	3.5±0.6	0.67±0.38	0.34±0.18
Grano entero	100	4.7±1.1	72.4±4.6	9.6±1.9	1.43±0.16	1.94±0.33

Fuente: (Rodríguez Méndez L.I., 2013).

1.7 Composición nutricional del grano de maíz.

En promedio, un mexicano recibe diariamente del maíz aproximadamente 1022 kcal y 26.3 g de proteína, lo que puede representar 50% de la ingesta diaria de una persona adulta, si se toma como base una dieta de 2000 kcal y 56 g de proteína (Fernández et al., 2013). Los principales componentes nutricionales que se encuentran en el maíz son:

Almidón: Es el componente químico principal del grano de maíz, siendo aproximadamente 75% del peso total del grano; se encuentra principalmente en el endospermo y tiene la función de reservorio de energía. Además del almidón hay otros hidratos de carbono sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3% del grano (Rodríguez, 2013).

Proteínas: En el endospermo se encuentran proteínas almacenadas, siendo las prolaminas zeínas un 60% del total; estas proteínas se caracterizan por su composición en aminoácidos como glutamina, prolina, alanina y leucina, no teniendo lisina ni triptófano (Fernández, 2014). El contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11% del peso del grano en las variedades comunes (Rodríguez, 2013). En maíces azules existe una relación de eficiencia proteica (PER) de 1.37 y una utilización proteica neta (NVP) de 72.78% (Sánchez-Castañeda, 2011).

Lípidos: El embrión del maíz está formado por lípidos en un 33% m/m, lo que llega a representar el 80% de los lípidos totales del grano (Fernández Sacristán L., 2014). La mayoría de los lípidos son triglicéridos y se componen por los ácidos linoleico (50%), oléico (35%), palmítico (13%), esteárico (4%) y linolénico (3%) (Sánchez-Castañeda A., 2011).

Antioxidantes y carotenoides: Según la variedad del maíz, contendrá más de un tipo de carotenoides que de otro, por ejemplo, algunas líneas llegan a acumular 66 µg/g con 15-18% de provitamina A, 45% de luteína y 35% de zeaxantina (Fernández Sacristán L., 2014). Los carotenoides tienen interés económico como pigmento natural y aditivo alimenticio, siendo una fuente de

precursores de vitamina A y antioxidantes con todos los beneficios que estos conllevan, por ejemplo, las variedades de maíz con pigmentación morada, azul o roja inhiben carcinogénesis en ratas y poseen actividades antimutagénicas y antioxidantes (López-Martínez et al., 2009). Los carotenoides, responsables de la coloración naranja y amarilla del endospermo en el maíz como el alfa y beta caroteno, poseen una alta capacidad antioxidante, tienen actividad de provitamina A y se ha observado su posible papel en la prevención de cataratas y degeneración macular relacionada con la edad (Zilic et al., 2012). El maíz también contiene antocianinas que en la actualidad tienen gran relevancia nutracéutica debido a sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y reductoras de triglicéridos y colesterol (Rodríguez, 2013).

Fibra dietética: Este componente se encuentra en el pericarpio y la capa aleurónica, aunque también en las paredes celulares del endospermo y, en menor medida, en las del germen. Se observa un mayor porcentaje de fibra insoluble que va del 8.79% al 13.77% (Rodríguez, 2013). En la tabla 3 se observa el valor nutricional que proporciona el grano de maíz.

Tabla 3: Valor nutricional del maíz.

Macronutrientes			Minerales			Vitaminas		
Nutriente	Unidad	Cantidad en 100g	Nutriente	Unidad	Cantidad en 100g	Nutriente	Unidad	Cantidad en 100g
Energía	kcal	365	Calcio	Mg	7	Tiamina	Mg	0.385
Agua	G	10.37	Fósforo	Mg	210	Riboflavina	Mg	0.201
Carbohidratos	G	74.27	Hierro	Mg	2.71	Niacina	Mg	3.627
Azúcares	G	0.64	Magnesio	Mg	127	Vitamina B6	Mg	0.622
Proteínas	G	9.42	Potasio	Mg	287	Folato	µg	19
Lípidos	G	4.74	Sodio	Mg	35	Vitamina A	µg	11
AG saturados	G	0.667	Zinc	Mg	2.21			
AG poliinsaturados	G	2.163						
Fibra	G	7.3						

Fuente: (Fernández, 2014).

1.8 Importancia del maíz en la alimentación, cultura y en la industria.

La dieta de una población particular forma parte de la memoria colectiva y no solo comprende la ingesta de alimentos, sino también expresa relaciones socioeconómicas y hace patente actos cargados de simbolismo cultural (García-Urigüen, 2012). Desde el punto de vista alimentario, político, económico y social, el maíz es el cultivo más importante del país; basta con decir que el consumo *per cápita* de maíz en México es aproximadamente 10 veces mayor que el de Estados Unidos de América (Serna-Saldívar y Amaya-Guerra, 2008).

El maíz puede ser utilizado también como fuente de un gran número de productos industriales (p. e. pastas, jarabes, endulzantes, aceite de maíz, bebidas sin alcohol, cerveza); del proceso de molienda húmeda se obtienen endulzantes, dextrosa, fructosa, glucosa, jarabes, almidón industrial, fibras, etanol y aceite de maíz a partir del germen (Secretaría de Economía, 2012). De igual forma, el subproducto más importante, es el alimento para animales (Moreno, 2014).

El mercado nacional de maíz está compuesto por diversas variedades, entre las que destacan el maíz blanco y el amarillo, pero también existen otras variedades como los maíces de color y el pozolero. El maíz blanco es utilizado principalmente para consumo humano a través de diversos alimentos tradicionales, como: atole, pan, tamales, entre otros; y como tortilla, procedente de la harina de maíz a base de nixtamalización (Secretaría de Economía, 2012). Por su parte, el maíz amarillo tiene aplicaciones para consumo humano, animal y de uso industrial, entre las que destacan la elaboración de féculas y almidones (insumo utilizado en la industria química, textil, alimentaria, entre otras); la elaboración de botanas, frituras y similares; cereales para el desayuno y producción de alimentos para animales (insumo utilizado para alimento balanceado para mascotas y el sector pecuario) (Secretaría de Economía, 2012).

Incluso las partes del maíz que pueden llegar a considerarse como desechos son utilizados para otros procesos: todas las partes de la planta, incluyendo raíces y

horcones, sirven como abono o combustible; la caña se utiliza como material de construcción, en el tallado de figuras artesanales, como medicina, así como también ha servido de envoltura, abono, combustible, bebida refrescante o embriagante; la hoja se usa como envoltura de tamales, también para fabricar objetos rituales o artesanales como recipientes, y para amarrar manojos de hierbas y especias (por muchos años, los cigarros fueron envueltos en hojas de totemoxtle); el olote, que es el corazón de la mazorca, se emplea como combustible y alimento para animales, como herramienta para desgranar las mazorcas, para pulir madera y piezas de alfarería, o como tapón de recipientes (Kato et al., 2009).

1.8.1 Consumo de maíz en México.

El alto consumo per cápita de maíz en México responde a que este es un grano básico para el consumo humano, ya que en promedio, cerca del 59% del consumo humano de energía y el 39% de proteínas, proviene del grano de maíz consumido como “tortilla” (Moreno, 2014); de la cual, el consumo *per cápita* es de 120 Kg/año, es decir, 328 gr de tortilla por día (Trejo, 2014).

Hay que tener en cuenta que la proporción del consumo nacional que es cubierta con producción del país ha sido cada vez menor. En el periodo 1985-1997 el consumo se abastecía con producción nacional en un 86%; mientras que para el lapso de 1998-2010 la cobertura se redujo a 77% en promedio. Así pues, al estimar el índice de dependencia sobre el consumo de maíz en México, se observa que el 35% del maíz que se consumió en México fue importado (Moreno, 2014), y es muy probable que en la actualidad ese porcentaje sea superado.

1.8.2 Cultura del maíz en México.

Una de las expresiones más contundentes del patrimonio biocultural de los pueblos se denota claramente en los ingredientes utilizados en los platillos y en la diversidad de los mismos en las cocinas de los pueblos del mundo. La cocina tradicional mexicana, que tiene como base al maíz, es considerada Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad, la cual fue reconocida por la Organización de las

Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) el 16 de Noviembre del 2010 (Secretaría de Cultura, 2010).

Siendo el maíz el cultivo básico de la dieta mesoamericana, la diversidad de platillos es muy amplia, y fue agrupada en 250 platillos en 2001 por el Consejo Nacional para la Cultura y las Artes (Kato et al., 2009). Sin embargo, se estima que podría el maíz podría estar presente hasta en 600 diferentes platos de la cocina mexicana (Barros, 2008). Cabe destacar que los diferentes procesamientos pueden contribuir a incrementar el valor nutritivo de los alimentos preparados. En la Tabla 4, podemos apreciar las principales razas de maíz que se emplean en la producción de algún tipo particular de alimento.

Tabla 4: Usos comunes y razas nativas asociadas.

Uso	Razas
Tortillas y relacionados	Ancho, Apachito, Arrocillo, Azul, Blando, Bofo, Bolita (tlayuda), Cacahuacintle, Chalqueño, Chapalote, Comiteco, Conejo, Cónico, Coscomatepec, Cristalino de Chihuahua, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Gordo, Harinoso de Ocho, Jala, Mushito, Nal-Tel de Altura, Olotillo, Olotón, Onaveño, Palomero de Chihuahua, Palomero Toluqueño, Pepitilla, Reventador, Tabloncillo, Tepecintle, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Vandefío, Zapalote Chico (totopo), Zapalote Grande.
Elotes	Ancho, Apachito, Blando de Sonora, Bofo, Cacahuacintle, Chapalote, Comiteco, Complejo Serrano de Jalisco, Conejo, Cónico, Coscomatepec, Dulce, Dulcillo del Noroeste, Elotero de Sinaloa, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Gordo, Harinoso de Ocho, Jala, Nal-Tel, Olotón, Pepitilla, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Tepecintle, Tuxpeño, Zapalote Grande.
Galletas y dulces	Blando de Sonora (coricos), Bofo (galletas), Cacahuacintle (galletas), Chalqueño (burritos), Elotes Occidentales (chicales), Gordo (galletas, harinillas), Harinoso de Ocho (coricos), Reventador, Tepecintle.
Palomitas	Apachito, Arrocillo Amarillo, Chapalote, Nal-Tel, Palomero de Chihuahua, Palomero Toluqueño, Reventador.
Botanas	Apachito, Azul, Celaya, Chapalote, Comiteco, Complejo Serrano de Jalisco, Cónico, Cónico Norteño, Coscomatepec, Cristalino de Chihuahua, Dulce de Jalisco, Dzit Bacal, Elotes Occidentales, Jala, Onaveño, Tablilla de Ocho, Tabloncillo, Tabloncillo Perla, Tehua, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Vandefío, Zamorano Amarillo, Zapalote Chico, Zapalote Grande.
Pozoles, sopas y menudos	Ancho, Blando de Sonora, Bofo, Bolita, Cacahuacintle, Chalqueño, Cónico Norteño, Dulce, Dulcillo del Noroeste, Elotes Occidentales, Gordo, Harinoso de Ocho, Jala, Mushito, Tabloncillo, Tuxpeño, Vandefío.

Atoles	Apachito, Arrocillo, Azul, Blando de Sonora, Bofo, Cacahuacintle, Chalqueño, Comiteco, Conejo, Coscomatepec, Cristalino de Chihuahua, Elotes Cónicos, Elotes Occidentales, Harinoso de Ocho, Mushito, Nal-Tel, Olotón, Pepitilla, Tehua, Tepecintle, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño, Zapalote Grande.
Pinoles	Apachito, Azul, Bofo, Cacahuacintle, Chalqueño (rojo-amarillo), Chapalote, Cónico, Dulce, Dulcillo del Noroeste, Elotes Cónicos, Gordo, Jala, Onaveño, Reventador, Tabloncillo, Tablilla de Ocho.
Harinas	Cacahuacintle, Celaya, Elotes Cónicos, Gordo, Harinoso de Ocho, Mushito, Olotón, Vandeño.
Bebidas	Apachito (tejuino, tesgüino), Azul (tesgüino), Bofo (huajatole, tesgüino), Bolita (tejate), Comiteco (pozol), Nal- Tel (pozol), Olotón (pozol), Tabloncillo (piznate), Tablilla de Ocho (tesgüino), Tepecintle (pozol), Tuxpeño (pozol), Zapalote Grande (pozol).

Fuente: (Fernández et al., 2013).

1.9 La tortilla.

La palabra tortilla (llamada *tłaxcalli* por los indígenas nahuas) se españolizó como diminutivo de torta (pan de maíz), según las crónicas de Fray Bernardino de Sahagún y de Bernal Díaz del Castillo (Figueroa et al., 1994). La tortilla es uno de los alimentos más característicos e importantes de México y se describe como “un pan aplanado elaborado de masa, con apariencia de disco delgado, alrededor de 160 a 250 mm de diámetro y de 1 a 2 mm de grueso” (Rodríguez, 2013).

La norma NOM-187-SSA1/SCFI-2002 define a la tortilla como el producto elaborado con masa, que puede ser mezclada con ingredientes opcionales sometida a cocción. En nuestro país alrededor de 82% de los hogares incluyen a las tortillas en su dieta, representando el 8.3 por ciento del gasto total en alimentos de los hogares mexicanos, muy por encima del 5.4 y 5.3 por ciento que destinan a la leche y a refrescos, o del 4.4 y 4.3 por ciento para pollo y bistec respectivamente (González, 2016). Se ha estimado que el consumo diario de tortilla por persona en las zonas rurales es de 217.9 g (con un peso aproximado de 27 g por tortilla, resultan 8 tortillas al día), mientras que en las zonas urbanas este indicador es de 155.4 gramos (6 tortillas al día) (Espejel, 2012).

La importancia de la tortilla en la dieta no es menor, pues se trata de un alimento que por sí solo provee el 38.8% de las proteínas, 45.2% de las calorías y 49.1% del calcio en la dieta diaria de la población en México. En las zonas rurales aporta aproximadamente el 70% del total de calorías y el 50% de las proteínas ingeridas diariamente por la población (Acevedo, 2000). Una tortilla elaborada a mano aporta 360 miligramos de calcio, en cambio, las elaboradas a nivel industrial aportan solamente 200 miligramos (Buenrostro, 2012).

Generalmente el maíz blanco es empleado para preparar tortillas en las ciudades; sin embargo, la tortilla consumida en las áreas rurales se elabora con el maíz que se produce localmente, que puede ser además del blanco, amarillo o de colores con pigmentos de antocianinas (azules o negros) (Salinas et al., 2010).

La industria de la tortilla se ubica en el quinto lugar en el mercado de los alimentos en México, con una producción estimada de 14 millones de toneladas y 28 mil millones de dólares en venta (Rodríguez, 2013).

1.9.1 Nixtamalización.

Los beneficios nutricionales que se obtienen de la tortilla se deben al proceso de nixtamalización. La palabra nixtamalización proviene del náhuatl *nextli*: cal de cenizas y *tamalli*: masa cocida de maíz (Rodríguez, 2013). El proceso tradicional consiste en la cocción alcalina del maíz por medio de agua con cal (Rodríguez, 2013). Durante este proceso el maíz se hierve con agua en una proporción de 1:3 (peso/volumen) al cual se le añade 1 a 3% de cal, con lo que alcanza un pH de 11 a 13; el tiempo de cocimiento fluctúa entre 20 a 40 minutos, dependiendo de la variedad de maíz que se trate: las de endospermo suave requieren menos tiempo que las de endospermo duro. Después del periodo de ebullición se corta el suministro de calor y se deja reposar entre 10 y 14 horas, lapso en el cual se alcanza la temperatura ambiente. El agua de cocción llamada nejayote, se elimina y se procede al lavado del nixtamal, eliminado el exceso de cal, después se muele para posteriormente realizar las tortillas (Acevedo, 2000).

A pesar de que este proceso conduce a la pérdida de algunas vitaminas y aminoácidos por el tratamiento térmico alcalino, la nixtamalización también induce otros cambios que desde el punto de vista nutrimental son positivos, sobre todo en lo referente a la biodisponibilidad de nutrimentos. Se ha reportado un aumento significativo en el contenido de calcio (del orden de 13 veces), el cual es biodisponible prácticamente en su totalidad (Bressani, 2008). También es mayor la cantidad de fibra dietaria soluble e incrementa la biodisponibilidad de la mayoría de los aminoácidos indispensables, lo que aumenta sensiblemente el valor biológico de la proteína. Adicionalmente, se ha reportado la degradación de aflatoxinas durante la nixtamalización y la elaboración de tortillas (Méndez-Albores et al., 2004). En la tabla 5 se encuentran las cantidades de nutrientes que se pueden encontrar en las tortillas.

Tabla 5: Composición aproximada de una tortilla (35g).

Componente	Intervalo de peso.
Humedad	13.3 a 15.8 g
Proteína	1.9 a 2.5 g
Grasa	0.3 a 1.3 g
Cenizas	0.3 a 1.4 g
Fibra dietética	1.2 a 1.4 g
Fibra cruda	0.24 a 0.60 g
Carbohidratos	15.0 a 17.0 g
Fósforo	64 a 91 mg
Calcio	34.3 a 73.5 mg
Magnesio	21 a 23 mg
Hierro	0.42 a 0.87 mg
Zinc	0.38 a 0.49 mg
Cobre	0.04 a 0.06 mg
Manganeso	0.14 mg
Sodio	0.70 a 6 mg
Potasio	36.8 a 64.8 mg
Tiamina	0.06 a 0.24 mg
Riboflavina	0 a 0.04 mg
Niacina	0.29 a 0.56 mg
Ácido fólico	0 mg
Ácido pantoténico	0.05 a 0.08 mg
Vitamina B6	0.04 a 0.10 mg
Energía	72 a 78.4 kcal

Fuente: (Amador L., 2005).

Capítulo 2: Producción de maíz en México y en el mundo.

Toda la gloria del mundo cabe en un grano de maíz. – José Martí.

Del total de la superficie sembrada con maíz en México, la mayor parte (80%) es de temporal o seco (Fernández et al., 2013), y está manejada por comunidades indígenas que se distribuyen en más del 50% del territorio nacional: 3 millones de familias en 30 mil ejidos y comunidades que disponen de 103 millones de hectáreas, que representan cerca del 70% de las unidades productivas del país (Toledo, 2008). Es aquí en donde los maíces nativos se seleccionan, producen, conservan, diversifican y domestican de acuerdo con las necesidades de las poblaciones locales. Por su parte, los maíces mejorados o híbridos son los que satisfacen en buena medida las necesidades de la agroindustria mexicana, y ocupan tan solo el 20% de la superficie total sembrada de maíz; se producen principalmente bajo sistemas de riego en el noroeste de México, en donde se registra un uso notable de agroquímicos (Fernández et al., 2013).

2.1 Sistemas agrícolas tradicionales con maíz.

Los grupos étnicos de México son guardianes de la enorme riqueza de germoplasma de maíces nativos del país y los preservan mediante la agricultura tradicional (Turrent, 2000); los pueblos indígenas y campesinos de México tienen casi el 100% de todas las razas que se han colectado en el país (Kato et al., 2013). El concepto “tradicional” implica que se trata de actividades que se han practicado y mejorado con la experiencia durante muchas generaciones en las comunidades. En este tipo de agricultura ha predominado el trabajo humano y animal sobre el trabajo mecanizado, y existe una mayor dependencia de las lluvias, lo que nos indica que existe un íntimo conocimiento físico-biótico del medio por parte de los productores (Kato et al., 2009).

El sistema agroecológico más importante en nuestro país es la milpa; es una palabra de origen náhuatl, que se deriva de *milli* “heredad”, y *pan*, “en, sobre”, que es un terreno dedicado al cultivo del maíz y a otras especies. La milpa data de tiempos

prehispánicos y mantiene su vigencia hasta nuestros días. Es la base de la alimentación e incluye además de la planta del maíz, diferentes variedades de frijol, calabaza, chiles y jitomate, así como tomate verde, amaranto, chilacayote, nopal, aguacate, verdolaga, chayote y pitaya (Acevedo-Gassman et al., 2009). Dentro de la estrategia tradicional de muchos grupos indígenas, la milpa es el principal sostén de la economía campesina y ha enriquecido nuestra biodiversidad agrícola (Kato et al., 2009).

La diversidad de la milpa es una estrategia y fuerza productiva en sí misma, ya que se centra en producir alimentos en cantidades moderadas de una amplia gama de cultivos y especies naturales, para enfrentar la diversidad geográfica, biótica y los ciclos anuales climáticos (Hernández X., 1985).

2.2 Ciclo agrícola del maíz en México.

En México el maíz se trabaja en dos ciclos productivos: primavera-verano y otoño-invierno (Secretaría de Economía, 2012) (Figura 4). En el ciclo otoño-invierno las regiones Noroeste y Norte son las que aportan los volúmenes más significativos de producción de maíz en México, produciendo en forma conjunta el 77.8% del total nacional. Los contribuyentes mayoritarios en este ciclo son los estados de Sinaloa, Durango, Zacatecas, Sonora, San Luis Potosí, Tamaulipas y Coahuila (Galarza, 2011). En la producción de maíz en el ciclo primavera-verano, destacan las regiones del Altiplano Central, Pacífico Sur, y Bajío, donde la producción de estas regiones asciende al 76% del total nacional del ciclo: los principales productores son México, Guerrero, Michoacán y Jalisco (Galarza, 2011).

El rendimiento por hectárea varía de acuerdo al sistema de producción agrícola; en el ciclo otoño-invierno el rendimiento promedio es de 3.6 toneladas por hectárea cosechada; en cambio para el ciclo primavera-verano el rendimiento promedio es de 2.08 toneladas por hectárea (Sánchez-Castañeda, 2011).

Figura 4: Calendario del ciclo anual de producción de maíz.

	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	% anual
Otoño- Invierno																			
Siembra	5%	20%	25%	25%	20%	5%													29.3%
Cosecha					5%	10%	15%	25%	30%	10%	5%								6, 631,191 ton
Primavera- Verano																			
Siembra							5%	10%	25%	40%	15%	5%							70.7%
Cosecha											5%	10%	10%	20%	25%	15%	10%	5%	18, 375,400 ton

Fuente: (Secretaría de Economía, 2012).

Como se comentó, la producción de maíz se distribuye durante los ciclos otoño-invierno y primavera-verano lo cual permite que durante todo el año se produzca maíz. En México se produce maíz blanco y amarillo en un 91% y 9% de la producción total respectivamente (SIAP, 2016). El maíz blanco se produce más, debido a que se usa para la alimentación humana principalmente, mientras que el amarillo se emplea para consumo animal o industrial (Secretaría de Economía, 2012).

En la tabla 6 se observa que la producción de maíz amarillo prácticamente se ha duplicado desde el 2006 hasta la fecha; en cambio la producción de maíz blanco ha sido constante, con excepción de la producción del año 2011, la cual fue la producción más baja en esta última década.

Tabla 6: Producción total de maíz en México.

Producción 2006-2016			
(miles de toneladas)			
Periodo	Maíz amarillo	Maíz Blanco	Total
2006	1516	20941	22457
2007	1586	22027	23613
2008	1531	22799	24330
2009	1877	18405	20282
2010	1912	19146	21058
2011	1519	17171	18690
2012	1740	20006	21746
2013	2333	20488	22821
2014	3046	22247	25293
2015	3236	21811	25047
2016	2325	15558	17883

Fuente: (SAGARPA/ASERCA, 2017).

2.3 Principales estados productores de maíz.

La mayor parte de la producción de maíz en México (95%) se orienta a la producción de maíz blanco, mientras que la producción de maíz amarillo se reporta principalmente en los estados de Chihuahua, Jalisco, Tamaulipas, Sinaloa, Chiapas y Zacatecas (Secretaría de Economía, 2012). En la tabla 7 se presentan los datos de producción de grano de maíz del año 2015 de los principales estados productores de maíz.

Tabla 7: Producción de grano de maíz por estados (Ciclo agrícola OI+PV 2015).

Estado	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Sinaloa	544,070.17	540,654.49	5,380,042.41	9.95	17,968,210.77
Jalisco	538,870.35	522,985.85	3,338,766.29	6.38	10,943,701.51
Estado de México	540,463.76	533,153.06	2,036,339.17	3.82	6,977,832.09
Michoacán	467,821.00	414,994.34	1,721,658.03	4.15	5,787,030.21
Guanajuato	356,833.88	348,530.88	1,361,922.09	3.91	4,655,614.62
Veracruz	580,999.90	563,914.90	1,212,089.33	2.15	4,662,073.56
Chihuahua	238,747.12	233,367.62	1,436,559.58	6.16	4,442,367.00
Guerrero	477,842.00	400,845.27	974,883.13	2.43	3,946,672.07

Chiapas	702,864.31	657,984.81	1,067,993.51	1.62	3,852,850.61
Puebla	556,196.61	523,045.21	1,002,154.92	1.92	3,797,692.35
Total	5,004,709.10	4,739,476.43	19,532,408.46	42.49	67,034,044.79

Fuente: (SIAP, 2016).

Para el año 2015, los estados de la República con mayor producción de maíz fueron Sinaloa y Jalisco con 21% y 13% respectivamente, después el Estado de México con 8%, Michoacán con 6.8, Guanajuato, Chihuahua, Guerrero, Veracruz y Chiapas con un promedio de 5-5.5%; los demás estados presentan un porcentaje de 4% o menor. El estado que menos aportó en la producción fue Baja California con 0.08% del total.

2.4 Balance de la producción y distribución del maíz.

El maíz blanco que se produce en el país es para el consumo nacional en su totalidad; de los 22 millones de toneladas producidas aproximadamente, cerca de 12.4 millones se destinan al consumo humano comercial (industria harinera y de masa de nixtamal, principalmente), alrededor de 4.2 millones son de producción no comercializable (autoconsumo), 4.4 millones de toneladas son consumidas por el sector pecuario y el resto se reparte entre semillas, mermas, inventarios y exportaciones (SIAP, 2016). El maíz amarillo (importado principalmente de los EE.UU.) es consumido por la industria productora de alimento pecuario balanceado, la industria de cereales, de frituras y botanas, de féculas y almidones (Secretaría de Economía, 2012).

En la tabla 8 se aprecian los datos de las exportaciones e importaciones de maíz en esta última década, se observa que la tendencia de importación va en aumento, sobre todo de maíz amarillo.

Tabla 8: Datos de importación y exportación de maíz en México por tipo de maíz.

Periodo	Maíz blanco		Maíz amarillo	
	Importación (miles de ton)	Exportación (miles de ton)	Importación (miles de ton)	Exportación (miles de ton)
2005	253	59	6312	0.02
2006	387	165	8304	0.03
2007	408	100	9092	0.05
2008	167	151	7512	0.01
2009	434	630	7668	0.08
2010	1133	74	6800	0.03
2011	1612	394	9259	0.05
2012	588	492	5076	0.02
2013	817	467	10254	6
2014	880	747	10331	8
2015	1008	1498	12635	35
2016	762	682	12608	6

Fuente: (SAGARPA/ASERCA, 2017).

Capítulo 3: ¿Qué es un Organismo Genéticamente Modificado (OGM)?

De maíz amarillo y de maíz blanco se hizo su carne; de masa de maíz se hicieron los brazos y las piernas del hombre. Únicamente masa de maíz entró en la carne de nuestros padres, los cuatro hombres que fueron creados.... – Popol vuh.

3.1 Definición.

Un OGM es aquel organismo al cual, mediante tecnología de ADN recombinante, se han insertado uno o varios genes o construcciones recombinantes que en conjunto expresan proteínas de interés biotecnológico, o afectan vías metabólicas para dar lugar a características de interés agronómico, alimentario o industrial (Key, Ma, & Drake, 2008).

Formalmente, la era de los alimentos transgénicos para el consumo humano directo se abrió el 18 de mayo de 1994, cuando la Food and Drug Administration (FDA) autorizó en Estados Unidos la comercialización del primer alimento genéticamente modificado, el tomate Flavr-Savr, que estaba modificado con el fin de retrasar la maduración y por consiguiente tenía un periodo más largo de conservación en la cadena de suministro (FAO, 2001).

3.2 Componentes de un organismo transgénico.

Un evento de transformación es una recombinación o inserción particular de ADN ocurrida en una célula vegetal, a partir de la cual se origina una planta transgénica, y se define como la inserción en el genoma, de forma estable y conjunta, de uno o más genes que forman parte de una construcción definida (*cassette* de expresión) (Arleo, 2015). En general, un *cassette* contiene las siguientes secuencias: a) secuencia promotora que regula la expresión de un gen, p.e. el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (35S CaMV); b) (trans)gen de interés, que codifica la proteína de interés; c) secuencia terminadora de la transcripción del mismo gen, que delimita hasta qué sitio del genoma la enzima ADN polimerasa realiza la transcripción; d) secuencia genética utilizada como marcador de selección: sirve

para saber qué plantas han sido transformadas exitosamente (Álvarez-Buylla et al., 2013)(Figura 5).

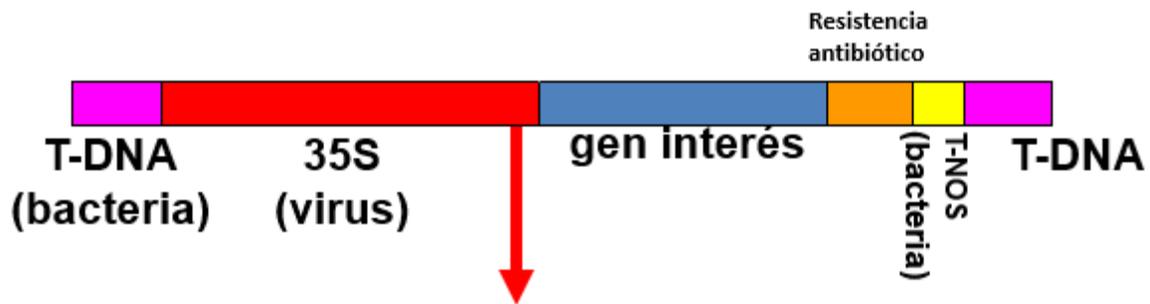


Figura 5. Partes que integran un cassette transgénico: La construcción recombinante contiene 4 secuencias. Lado izquierdo: secuencia promotora que regula la expresión de un gen (p.e. promotor constitutivo 35S); (trans)gen de interés: codifica para la proteína que se quiere producir en un organismo GM. Lado derecho: Secuencia terminadora de la transcripción del mismo gen (p.e. terminador Nos); Secuencia utilizada como marcador de selección: sirve para saber qué planta fue transformada exitosamente; T-DNA: segmento de ADN bacteriano transferible (Álvarez-Buylla et al., 2013).

3.2.1 Promotor CaMV 35S y terminador de la transcripción T-Nos.

El Virus de Mosaico de la Coliflor (CaMV, por sus siglas en inglés) es un virus de ADN que infecta a las plantas de los géneros *Brassicaceae*, *Cruciferae*, *Resedaceae*, y *Solanaceae* (Alavez et al., 2013). El promotor 35S de CaMV es un promotor funcional que se expresa constitutivamente. Por lo tanto, se ha incorporado en numerosas construcciones genéticas de los cultivos transgénicos como el maíz, soja, canola, y papaya (Holden, 2010); está presente en más del 84% de las líneas de maíz transgénico comercializadas hasta 2008 (Alavez et al., 2013). El promotor CaMV es una secuencia de cerca de 350 pares de bases río arriba del transcrito de 35S, cerca de 250 pares de bases que se superponen con la región 3' al final del gen viral VI, el último de seis largos marcos de lectura (Ho et al., 1999).

Existen preocupaciones de la comunidad científica sobre la presencia del promotor en las construcciones transgénicas introducidas en plantas, y que este altere el funcionamiento de otros genes cercanos no blanco de la propia planta transgénica (Álvarez-Buylla et al., 2013). Otra preocupación es la posibilidad de que el promotor 35S sea transferido de plantas GM a plantas convencionales, a través de un proceso de transferencia horizontal de ADN, debido a que el promotor posee un *hot-spot* de

recombinación, lo cual amplía la probabilidad de una transferencia horizontal viable (Kohli et al., 1999; Álvarez-Buylla et al., 2013).

El terminador T-Nos del gen de la *nopalina sintasa* proveniente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, es un elemento regulatorio, que indica el fin de la transcripción, utilizado en muchas plantas transgénicas (Holden et al., 2010). Aproximadamente el 70% de las plantas transgénicas liberadas, tienen en su construcción al terminador del gen de la enzima *nopalina sintasa (nos)* de *Agrobacterium tumefaciens* (Arleo, 2015).

3.3 Proceso de generación de organismos recombinantes.

Existen varios métodos para transformar una planta mediante la integración de un gen de interés en el genoma de la planta; pero en ninguno de ellos es posible controlar *a priori* la ubicación del inserto transgénico en el espacio cromosómico. Entre los más comunes se encuentran:

Transformación de protoplastos: Consiste en la eliminación de la pared celular de los vegetales, rica en celulosa, mediante el uso de enzimas. Se originan así los protoplastos, que son células 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 (organismos que presenten a la vez células transformadas y no transformadas) (Fernández, 2006).

Transformación por biobalística o “biobombardío”: El método biobalístico es el más usado en las transformaciones comerciales de maíz, aunque con mayor frecuencia produce copias redundantes del inserto transgénico (Fernández et al., 2009). Se basa en el bombardeo de la célula vegetal con partículas de tungsteno u oro recubiertas del ADN que se desea insertar en la célula. 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 universal, debido a que puede aplicarse con éxito a prácticamente todos los organismos vivos (Fernández, 2006). Los vegetales modificados obtenidos por esta técnica presentan a menudo patrones complejos de

integración de los transgenes, y es difícil que se produzcan eventos individuales de integración. Además, la técnica parece ser compleja cuando se pretende introducir genes de un gran tamaño, debido a que se presentan mecanismos de ruptura del ADN. Algunos de estos problemas pueden ser evitados con una modificación de la técnica, llamada agrolística, que permite la generación de eventos de integración sencillos, incluso después de que se apliquen las técnicas de biobalística o de transformación de protoplastos. La potencia de la biobalística es tal, que permite la integración del ADN exógeno no solamente en el núcleo de la célula, sino también puede incorporarse en organelos subcelulares como el cloroplasto (Fernández, 2006).

Transformación mediada por *Agrobacterium*: A pesar de que la biobalística es una técnica empleada con regularidad, la transformación mediada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* es la técnica más ampliamente utilizada; esta bacteria del suelo es un patógeno vegetal que transfiere un segmento de su propio ADN dentro de las plantas hospederas, lo que produce una proliferación de células en las partes de la planta más cercanas al nivel del suelo (tumores del cuello o *Crown Gall disease*) (Tomlinson & Fuqua, 2009). Parte del ADN de esta bacteria, llamado T-DNA, está integrado en moléculas extracromosómicas llamadas plásmidos, los cuales, son moléculas de ADN extracromosómico que juegan un papel importante en la adaptación bacteriana a diferentes ambientes, ya que promueven la transferencia de genes entre estos microorganismos (Loaeza et al., 2004). El mecanismo de integración del ADN está dirigido por un conjunto de genes bacterianos, denominados *genes vir* (por virulencia), cuya expresión se induce en presencia de compuestos fenólicos liberados por las propias plantas en crecimiento (Fernández, 2006).

En el laboratorio se puede sustituir parte del ADN bacteriano transferible (T-DNA) por un gen o secuencia genómica de interés y conservar sólo los elementos que permiten la infección. Este método de transformación es, con toda seguridad, el más económico y no requiere de equipos sofisticados ni de protocolos complejos. La

desventaja inicial que presenta *Agrobacterium* es que infecta preferencialmente a dicotiledóneas, y no es muy eficaz con monocotiledóneas (Fernández, 2006).

3.3.1 Mecanismos de selección.

Sea cual fuere la técnica de transformación utilizada, es necesario tener un mecanismo que permita seleccionar a los organismos que integraron correctamente el gen de interés, de aquellos en donde no se produjo dicha integración. La selección directa consiste en usar la característica que se introdujo al organismo hospedero como criterio de selección. Este criterio de selección es el más recomendable, ya que no es necesario introducir algún tipo de marcador de selección indirecto, como sería un antibiótico o alguna proteína fluorescente (Fernández, 2006).

Los marcadores de selección son genes que se introducen junto con los elementos genéticos que codifican la característica de interés principal y son utilizados en el momento de creación del OGM, que se desarrollará más adelante. Este gen permite seleccionar a las células u organismos transformados, ya que los no transformados mueren o se desarrollan diferencialmente (Argenbio, 2007). Hay aproximadamente 50 marcadores que se eligen según la situación de cada variedad. Son habituales los marcadores que codifican resistencia a los antibióticos kanamicina, higromicina y neomicina y a herbicidas como fosfinotricina (Fernández, 2014).

3.4 Tipos de maíz transgénico.

En el mundo se encuentran disponibles comercialmente 143 eventos de maíz GM para diversos rasgos, la gran mayoría corresponden a maíz con tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos y se encuentran como eventos transgénicos individuales o apilados (ISAAA, 2015d).

3.4.1 Resistencia a insectos.

Dado que las pérdidas causadas por pestes y enfermedades afectan un 37% de la producción agrícola mundial, y de esto el 13% corresponde al daño causado por insectos (Rodríguez, 2013), con ayuda de la ingeniería genética, se planteó resolver este problema y como resultado surgieron los cultivos resistentes a insectos, que en su totalidad (más del 90%) emplean las proteínas tóxicas producidas por *Bacillus thuringiensis* (Costa et al., 2000). Esta bacteria fue descrita en Japón por Shigetane Ishiwata en 1901. 10 años después, Ernest Berliner en Thüringen, Alemania, la nombró *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Cabrales, 2012). Posteriormente Christopher Hannay en 1953, mediante micrografías electrónicas notó la presencia de un cristal en forma de diamante y lo nombró “cristales paraesporales”; en ese mismo año, Thomas Angus descubrió que dichos cristales presentaban actividad insecticida (Ibrahim et al., 2010). El primer insecticida comercial basado en Bt, llamado Sporine, se produjo en Francia en 1938 y se utilizó principalmente para controlar las polillas de la harina (Ibrahim et al., 2010). En los Estados Unidos, el primer insecticida Bt fue fabricado comercialmente en 1958 y desde 1996, los cultivos transgénicos resistentes a insectos, conocidos como cultivos Bt, se han expandido gradualmente en 28 países (Ibrahim et al., 2010).

3.4.2 Tolerancia a herbicidas.

La tolerancia a herbicidas es definida 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 (Sánchez, 2011). Sin embargo, en una planta, la resistencia puede desarrollarse de manera natural o puede ser inducida por medio de técnicas como la transgénesis o la selección de variantes resistentes obtenidas por cultivo de tejidos o mutagénesis (Sánchez, 2011). Ciertas líneas de maíz han sido modificadas para tolerar el agregado de herbicidas de uso común en la agricultura moderna.

Mundialmente se encuentran disponibles 121 eventos transgénicos con tolerancia a algún herbicida (ISAAA, 2015d); entre los más comunes encontramos los que

otorgan resistencia al glifosato y al glufosinato de amonio; adicionalmente se encuentran los que otorgan tolerancia a dicamba y 2,4-D (Gurian-Sherman & Mellon, 2013). Existen variedades de maíz transgénico tales como las líneas NK603 y Ga21, a las que se les insertó el gen *epsps* proveniente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, lo que otorga tolerancia a la aplicación del herbicida comercial *Roundup*®, cuyo ingrediente activo es el glifosato (N-fosfometil glicina) (Monsanto, 2008).

El glifosato inhibe a la enzima *5-enolpiruvil shikimato-3 fosfato sintetasa (EPSPS)* en plantas, bacterias, algas, hongos y parásitos; esta enzima es clave para la síntesis de aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina y triptófano. La EPSPS es codificada en plantas por un gen nuclear cuyo producto activo se localiza en los cloroplastos. El glifosato actúa como un inhibidor competitivo del sustrato de la enzima, impidiendo la formación del complejo funcional y su posterior transporte al cloroplasto (Monsanto, 2008). Las variedades de maíz genéticamente modificadas con resistencia al herbicida, contienen el gen *epsps* proveniente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* (EPSPS). La enzima producida por el gen *epsps* tiene una menor afinidad por el glifosato y es catalíticamente activa en presencia del herbicida (Arleo, 2015).

3.4.3 Eventos transgénicos apilados.

Se generan a partir de la cruce entre una planta que tiene un evento transgénico con algún rasgo individual con otro u otras plantas que contienen uno o más rasgos transgénicos, dando lugar a un transgénico apilado o piramidado (De Schrijver et al., 2006).

3.5 Métodos más comúnmente usados para la detección de OGM's basados en material genético (ADN).

Entre los métodos más usados para detectar OGM encontramos: El ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA), con el que se estudia la presencia de proteínas específicas, explotando la especificidad de la unión entre un antígeno expresado y un anticuerpo diana; la técnica es la amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), este método permite la amplificación *in vitro* de secuencias específicas de nucleótidos por medio de iniciadores específicos (JRC., 2007). El uso de la técnica de ELISA para la detección de OGM muchas veces se encuentra limitado por el bajo contenido de proteínas expresadas por el transgen, o por la degradación de las mismas durante el procesado del alimento. Sin embargo, los métodos basados en ADN resultan ser más específicos y sensibles. La PCR permite la amplificación selectiva de segmentos específicos de ADN presentes con baja frecuencia, en una mezcla que contiene otras secuencias de ADN. Mientras que los alimentos crudos pueden identificarse fácilmente como GM, la detección es más difícil cuando éstos se encuentran procesados; los alimentos procesados contienen ADN degradado y sustancias que interfieren incluso con la reacción de PCR. Aunque la PCR funciona con trozos relativamente pequeños de ADN, cuanto más procesado esté el alimento, más difícil será la detección del transgen (Querci et al., 2010).

Es posible diferenciar tres etapas en el proceso de detección de OGM en alimentos. La primera etapa consiste en la detección cualitativa o escrutinio de OGM, cuyo fin es evidenciar la presencia o ausencia de material GM en una muestra. Para ello, se buscan secuencias comunes entre distintos eventos transgénicos, a modo de abarcar la mayor cantidad de los OGM liberados. La segunda etapa es la de identificación, cuyo objetivo es determinar específicamente cuál o cuáles son los eventos transgénicos que están presentes, de modo de descifrar si se trata de eventos aprobados o no aprobados. La tercera etapa opcional consiste en la cuantificación, cuyo propósito es determinar el contenido porcentual de OGM en el alimento, para evaluar si requiere o no el etiquetado (Griffiths et al., 2002).

3.5.1 La reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia diana es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células (Tamay et al., 2013). La PCR permite la amplificación selectiva de segmentos específicos de ADN presentes con baja frecuencia en una mezcla compleja con otras secuencias de ADN. En la PCR, los pequeños fragmentos de ADN complementario se llaman cebadores y se utilizan por pares. Estos cebadores se diseñan para hibridarse con sitios de reconocimiento de la secuencia complementaria en hebras opuestas del gen de interés. A través de una serie de ciclos térmicos diferenciales repetitivos, una enzima ADN polimerasa ayuda a la replicación y a la amplificación exponencial de la secuencia situada entre el par de cebadores. Finalmente, estos fragmentos amplificados se someten a electroforesis en geles de agarosa o de acrilamida para poder detectar su presencia en función de la determinación de su tamaño (JRC., 2007). Un requisito previo fundamental de la detección de OGM es el conocimiento del tipo de modificación genética, incluida la conformación molecular del gen introducido y los elementos reguladores (promotores y terminadores) que lo flanqueen (JRC., 2007).

Sistema de detección por fluorescencia.

Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR en tiempo real pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos (Costa, 2004). Los agentes intercalantes son fluorocromos que aumentan notablemente la emisión de fluorescencia cuando se unen a ADN de doble hélice. El más empleado en PCR a tiempo real es el *SYBR® Green*. A medida que la reacción de PCR avanza, el producto amplificado se acumula, y una mayor proporción de moléculas de *SYBR® Green* se unen a las dobles hebras de ADN generadas, lo que resulta en un aumento de la señal de fluorescencia.

La ventaja de la utilización del *SYBR® Green* es su simplicidad y capacidad de detectar concentraciones bajas de ADN de doble cadena, además de ser más económico que las sondas específicas. La principal desventaja es su falta de especificidad. El *SYBR® Green* se intercalará a cualquier secuencia de doble cadena, dificultando la distinción entre el ADN diana y la amplificación de secuencias no objetivo o de dímeros de cebadores. Por esta razón, resulta prudente verificar si se está amplificando la secuencia diana u otro artefacto, para lo cual se implementa el análisis de la curva de disociación (*melt curve*) (Hernández et al., 2003).

El principio del análisis de la curva de disociación reside en aumentar la temperatura para que todas las hebras de ADN que se encuentren en doble cadena, se disocien a simple hebra. De esta forma, las moléculas de *SYBR® Green* que se encontraban unidas al ADN de doble cadena se liberan, lo que se observa como una disminución de la fluorescencia. En una curva de disociación típica, se representa la intensidad de fluorescencia frente a la temperatura y se traza la primera derivada negativa ($-d(\text{RFU}) / dt$). Esta derivada representará un pico característico a cada amplicón, conocido como temperatura de disociación (melting temperature).

La temperatura de disociación o T_m , es la temperatura a la cual el 50% de los pares de bases de un dúplex de ADN se separan. Dependerá del tamaño del ADN de doble cadena y de su composición en bases nitrogenadas. Cuanto mayor sea el contenido de GC y más grande sea el tamaño de amplicón, más alta será la temperatura de disociación. Mediante la comparación de las T_m de los amplicones conocidos, se puede detectar fácilmente la presencia de un amplicón no objetivo adicional, o de la formación de dímeros de cebadores (Flores et al., 2007).

3.5.2 PCR en Tiempo Real (qPCR).

A diferencia de la PCR en punto final, los sistemas de PCR en tiempo real monitorean la cantidad de producto a medida que la reacción tiene lugar. En este tipo de sistema, la PCR se acopla a la emisión de una señal fluorescente proporcional a la cantidad de producto generado en cada ciclo sucesivo de reacción.

El primer incremento significativo de la fluorescencia se correlaciona con la cantidad inicial del molde de ADN diana (Vinueza-Burgos, 2009). A medida que progresa la reacción de PCR, se recogen los datos de fluorescencia (valores Rn) y se construye un gráfico respecto al tiempo de reacción (número de ciclos) (Figura 6). La cuantificación se efectúa en la fase de crecimiento exponencial de la cantidad de ADN amplificado. El número de ciclo en el cual la emisión de la intensidad de fluorescencia se eleva por encima del ruido de fondo, se conoce como ciclo umbral, o Cq (López, 2013). Cuanto mayor es la cantidad inicial de ADN genómico, más rápido se detecta el producto acumulado y más bajo resulta el valor de Cq. La cuantificación se realiza comparando el número de ciclo Cq, en el cual la muestra problema alcanza un mismo nivel de fluorescencia que una muestra patrón, cuya concentración inicial o número de copias de ADN es conocida. Si en cada ciclo de PCR se duplica el número de moléculas (asumiendo una eficiencia de la reacción del 100%), el valor de Cq debe ser proporcional al número de copias de ADN inicial en la muestra (Arleo, 2015).

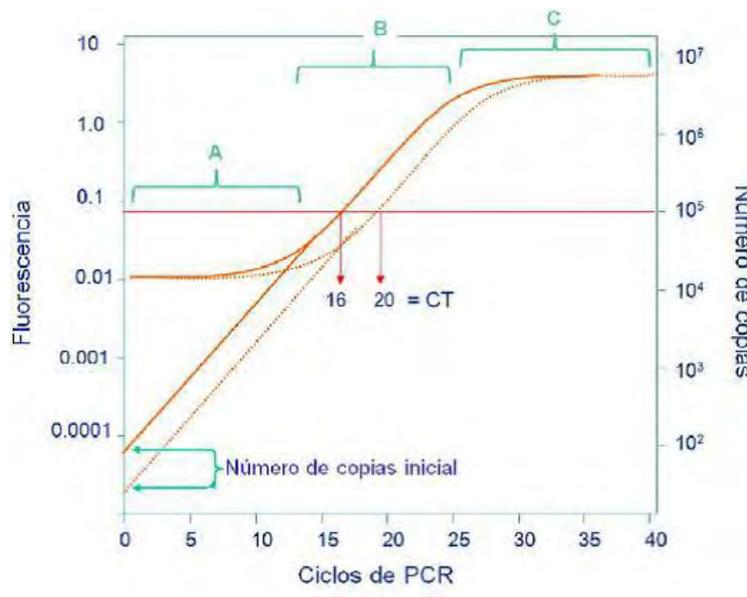


Figura 6: Esquema de las diferentes etapas de la detección de fluorescencia en un sistema de PCR en tiempo real. En "A" sólo se detecta fluorescencia de fondo. En los ciclos incluidos en "B" se observa incremento exponencial de fluorescencia y es posible realizar medidas tanto cualitativas como cuantitativas. En "C" la reacción ha llegado a saturación o agotamiento de los reactivos, el nivel de fluorescencia se iguala independientemente de la cantidad de ADN de partida y la medida sólo es relevante como dato cualitativo (tiempo final). El Cq de cada muestra representa el ciclo en el que la fluorescencia alcanza el nivel de referencia (umbral), y es proporcional al número de copias de ADN iniciales en la reacción (Arleo, 2015).

El número de copias de ADN cuando se alcanza el nivel de fluorescencia de referencia, N_{Cq} , será proporcional al número de copias diana inicial, N_i , según la ecuación:

$$N_{Cq} = N_i X 2^{Cq}$$

Dado que experimentalmente, la cantidad de ADN producida en cada ciclo puede no ser exactamente el doble de la presente en el ciclo previo, se puede proponer una forma más general de la ecuación anterior:

$$N_{Cq} = N_i X (1 + E)^{Cq}$$

En la que E es la eficiencia de la reacción de PCR, es decir, el número medio de copias de producto de reacción por ciclo de PCR. La eficiencia puede ser calculada experimentalmente, tomando el valor de la pendiente de una curva de calibración realizada con diluciones seriadas de un estándar de ADN de concentración conocida (Cq vs $\log [ADN]$). E se calcula de acuerdo a la fórmula:

$$E = 10^{\left(\frac{1}{pendiente}\right)}$$

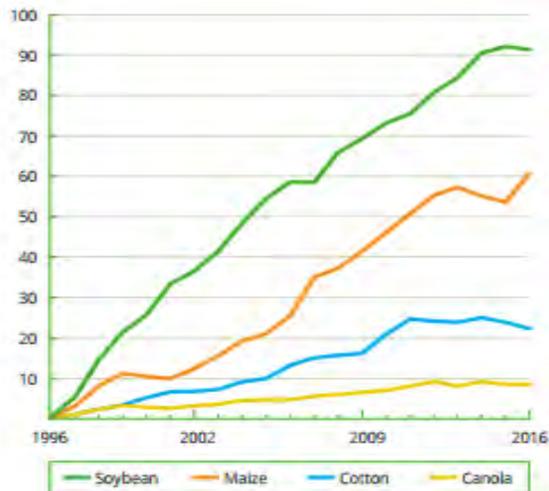
El cálculo de la eficiencia de PCR es importante en los métodos de cuantificación, ya que permite realizar comparaciones entre datos obtenidos a partir de amplificaciones independientes.

Capítulo 4: Situación actual del cultivo de OGM's.

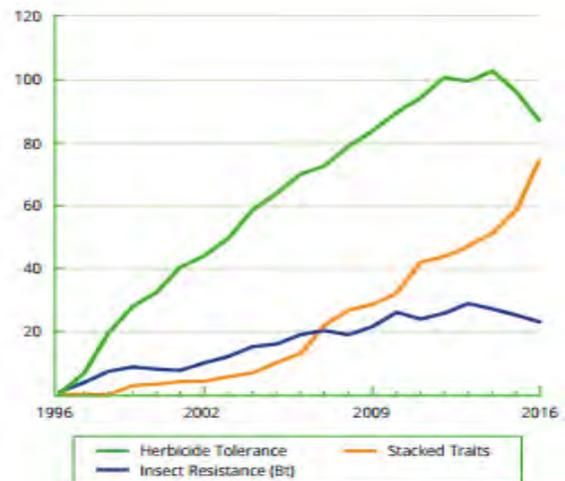
Sin importar que tan urbana sea nuestra vida, nuestros cuerpos viven de la agricultura; nosotros venimos de la Tierra y retornaremos a ella, y es así que existimos en la agricultura tanto como existimos en nuestra propia carne. – Wendell Berry.

4.1 Producción mundial (áreas de siembra de OGM y aspectos económicos).

En 2015, 28 países han plantado cultivos transgénicos, ocupando un área de siembra de 179.7 millones de hectáreas (ISAAA, 2016); además, de que se han aprobado 357 eventos transgénicos que cubren 27 cultivos genéticamente modificados (GM) autorizados para alimentación humana y animal en 65 países (Rao et al., 2015). De los eventos transgénicos de maíz que más se siembran, está el evento NK603 tolerante al herbicida glifosato aprobado en 26 países, seguido por MON810 y Bt11 aprobados en 25 y 24 países, respectivamente. Entre los países que más siembran OGM's encontramos que Estados Unidos es el país que más cultivos GM siembra con una superficie de 70.9 millones de hectáreas sembradas, Brasil se ubica en segundo lugar, con una superficie cultivada de 44.2 millones de hectáreas, y Argentina obtiene el tercer puesto con 24.5 millones de hectáreas (ISAAA, 2016b). 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 el 31%), el algodón (21 millones de hectáreas y 14%) y la canola (7 millones de hectáreas y 5%) (Sánchez, 2011); en cuanto a las variedades de transgénicos, los de tolerancia a herbicidas ocupan el primer lugar (Figura 7).



Source: ISAAA, 2016



Source: ISAAA, 2016

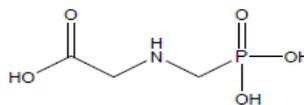
Figura 7: Tendencia en la siembra de los cultivos y rasgos transgénicos: Del lado izquierdo se muestra la evolución de los cultivos transgénicos a través del tiempo (en millones de ha); del lado derecho la evolución de los rasgos transgénicos a través del tiempo en millones de ha). Fuente: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/52/pptslides/default.asp>

4.1.1 Glifosato.

El glifosato, cuyo nombre químico es sal isopropilamina de N-(fosfometil) glicina o N - (Fosfometil) glicina (I.U.P.A.C. y C.A.) (Tabla 9), comenzó su comercialización a partir de 1974, después de ser creado en mayo de 1970 por John E. Franz (Pengue, 2003). El glifosato posee una potente actividad herbicida con amplio espectro de acción, sistemático y no selectivo (Islas, 2013); es absorbido a través de la superficie de hojas y tallos, posteriormente es translocado y se concentra en los tejidos meristemáticos (Sánchez, 2011).

Tabla 9: Propiedades fisicoquímicas del glifosato.

Nombre IUPAC	N-(fosfonometil)glicina
Formula molecular	C ₃ H ₈ NO ₅ P
Forma	Cristales incoloros
Punto de fusión	200°C
Densidad	1.7 g cm ⁻³
Log K _{ow}	-3.2 a 25°C
Solubilidad	12 g l ⁻¹ a 25°C en gua, y es prácticamente insoluble en disolventes orgánicos
Características físicas	Incoloro, inodoro, sólido cristalino
Estabilidad	Estable hasta 60°C
Vida media en los campos del suelo	DT ₅₀ 3-174 días
Vida media agua	DT ₅₀ 5-91 días
PKa	0.78, 2.09, 5.96, 10.98



Fuente: (Islas, 2013).

Toxicidad del glifosato en animales.

Los animales muestran respuestas alérgicas, incluyendo estómagos irritados e inflamados, decoloración de la mucosa del estómago, perforaciones intestinales; se traducen en síntomas conductuales de irritabilidad y comportamiento anti-social en las vacas (anormal en animales de manadas) (Sirinathsinghji, 2012). Se ha encontrado que el glifosato cambia significativamente el desarrollo de la pubertad de ratas macho Wistar en forma dependiente de la dosis; reduciendo la producción de testosterona, lo que sugiere que la formulación comercial de glifosato es un potente disruptor endocrino *in vivo* en el desarrollo reproductivo en ratas cuando la exposición es en el período de pubertad; esto concuerda con lo expuesto por Dallegrave et al. (2007) que concluyeron que la formulación comercial de glifosato (Roundup), induce efectos reproductivos adversos en ratas macho Wistar durante la exposición prenatal y postnatal; una disminución en el número de espermatozoides durante la etapa adulta, un incremento en el porcentaje de espermatozoides anormales y una disminución del nivel sérico de testosterona en la pubertad (Salazar et al., 2011).

Malezas resistentes a herbicidas.

El uso de glifosato tanto en cultivos tolerantes a herbicidas (TH), como en cultivos no-TH se ha incrementado en los Estados Unidos y en el mundo. En los Estados Unidos se ha empleado un estimado de 1, 070 millones de kilogramos solo en la década de 2005 a 2014, lo que representó alrededor del 71% del uso de glifosato desde la introducción de los cultivos GM (Benbrook, 2016). El glifosato es un herbicida de dosis relativamente alta que se aplica usualmente en una tasa de 0.67 y 0.9 kilogramos por hectárea (Benbrook, 2012). El uso masivo de glifosato y de otros herbicidas han ocasionado la aparición y propagación de las llamadas “supermalezas”. Antes de la introducción de los cultivos RH en 1996, las especies de malezas resistentes al glifosato eran prácticamente desconocidas; pero en ese mismo año se reportó la primera supermaleza: *Lolium rigidum* L, que surgió en Australia en los cultivos de canolas RH (Trejo, 2014).

En este momento hay 461 casos de malezas resistentes a los herbicidas a nivel mundial, con 247 especies (144 dicotiledóneas y 103 monocotiledóneas). Las malezas han desarrollado resistencia a 22 de los 25 sitios de acción de los herbicidas y generado resistencia a 157 herbicidas diferentes. Plantas resistentes a herbicidas han sido reportadas en 86 cultivos en 66 países (<http://weedsience.org/>). Nuestro país ocupa el lugar 39 en el listado de países con malezas resistentes a herbicidas con 7 especies (Tabla 10).

Tabla 10: Especies resistentes a herbicidas en México.

Especie	Año de descubrimiento	Sitio de acción
<i>Phalaris minor</i>	1996	Inhibidores de ACCasa
<i>Phalaris paradoxa</i>	1996	Inhibidores de ACCasa
<i>Avena fatua</i>	1998	Inhibidores de ACCasa
<i>Sorghum halepense</i>	2009	Inhibidores de ALS
<i>Leptochloa virgata</i>	2010	Inhibidores de EPSP sintasa
<i>Bidens pilosa</i>	2014	Inhibidores de EPSP sintasa
<i>Ixophorus unisetus</i>	2014	Inhibidores de ALS

Fuente: <http://weedsience.org/summary/country.aspx?CountryID=29>

Para que quede claro el tipo de resistencia que presentan las variedades reportadas en la tabla 10, a continuación describiremos el modo en que se da dicha resistencia:

Resistencia a inhibidores de la enzima acetolactato sintasa (ALS): La enzima ALS también conocida como acetohidroxiácido sintasa (AHAS), es la primera enzima común en el esquema para la biosíntesis de los aminoácidos valina, leucina e isoleucina, y es el sitio de acción de sulfonilureas, imidazolinonas, pirimidiloxitiobenzoato y triazolopirimidinas sulfonilidas. Los herbicidas inhibidores de ALS son ampliamente utilizados, debido sus bajas dosis, alta eficiencia, baja toxicidad a los mamíferos y buena selectividad sobre los principales cultivos; sin embargo, en los últimos años, más malezas han sido identificadas con resistencia a inhibidores de ALS que con resistencia a cualquier otro modo de acción de herbicidas. En malezas, se ha encontrado que la resistencia a este tipo de herbicidas, es ocasionada por mutaciones en el gene nuclear ALS, que resultan de la sustitución de aminoácidos en las siguientes posiciones: alanina 122, prolina 197, alanina 205, triptofano 574, serina 653 y aspartato 376. El nivel de resistencia puede aumentar de 60 a 3,200 veces dependiendo de la posición del aminoácido afectado y la sustitución específica (SENASICA, 2012).

Resistencia a inhibidores de la enzima Acetil-Coenzima A Carboxilasa (ACCase): Uno de los mecanismos de resistencia que se han reportado es la existencia de isoformas de ACCase que no son inhibidas por estos herbicidas, o bien, el aumento substancial en la actividad de las isoformas susceptibles. Durante algún tiempo se pensó que la depolarización diferencial de la membrana citoplasmática entre los biotipos susceptibles y los resistentes, era un mecanismo de resistencia a los inhibidores de la ACCase, pero en la actualidad, se acepta que la repolarización de la membrana observada en algunas plantas resistentes, es una consecuencia secundaria de un mecanismo de resistencia, y no el mecanismo en sí. Se ha demostrado que el metabolismo en que están involucrados principalmente el citocromo P450, glutatión-S-transferasa y glucosiltransferasa, es la causa de la resistencia en algunos biotipos de *Alopecurus myosuroides*, *Avena fatua*, *A. sterilis*, *Hordeum leporinum*, *Digitaria sanguinalis* y *Lolium spp.* Sin embargo, aunque la resistencia basada en el metabolismo se está extendiendo rápidamente, existe poco conocimiento de la misma, ya que varios genes están involucrados, lo que hace impredecible la evolución de este tipo de resistencia (SENASICA, 2012).

Resistencia a inhibidores del fotosistema I: Se han sugerido dos diferentes mecanismos, uno basado en el incremento de los niveles de las enzimas que están involucradas en la detoxificación de las formas de oxígeno activado (catalasa, superóxido dismutasa, peroxidasa) y el segundo basado en el secuestro rápido de estos herbicidas en el apoplasto. Resistencia a inhibidores de la enzima 5-enol-piruvil-shikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) (SENASICA, 2012).

La generación de resistencia a glifosato representa también una amenaza económica; por ejemplo, en el caso del algodón ya ha sucedido que los productores estadounidenses se han visto forzados a dejar la siembra de sus cultivos por causa de la invasión de malezas TH, como el amaranto (Benbrook, 2012).

Adicionalmente, en ambientes donde dominan cultivos resistentes a herbicidas, hay menos poblaciones de aves e insectos; de 1999 a 2010 se reportó una reducción del 81% de mariposas monarcas (Pleasants & Oberhauser, 2013).

Toxicidad del glifosato en humanos.

En 2015 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) clasificó al glifosato como posible cancerígeno en humanos (IARC, 2015). En la tabla 11, se muestran los valores de toxicidad que establecen distintas dependencias sobre el glifosato.

Tabla 11: Toxicidad del Glifosato.

DL ₅₀ (ratas, vía oral)	IDA	LMR (en maíz)	Fuente
5000 mg /Kg	0,3 mg /Kg	0,1 mg /Kg	(Salazar López N. J. et al., 2011)
-	0-1 mg/kg	5 mg/Kg	(Codex alimentarius. 2015)
>5000 mg /Kg	0,3 mg /Kg	0,1 mg /Kg	(Cofepris)

DL₅₀: Dosis letal media

IDA: Ingesta diaria admisible

LMR: Límite máximo residual.

Los daños que se manifiestan por la toxicidad directa del glifosato son: alteraciones endocrinas, daño en el ADN, toxicidad reproductiva y del desarrollo, neurotoxicidad, cáncer y defectos de nacimiento (Sirinathsinghji, 2012). Por ejemplo, hay estudios que demuestran que en comunidades donde se asperja glifosato, la interacción con este causó daño en cromosomas y en el ADN de células humanas, así como un

aumento en marcadores de daño cromosomal en muestras de sangre de pobladores de la comunidad (Guyton et al., 2015); adicionalmente a las afectaciones anteriores, también se ha observado un incremento dramático de problemas respiratorios, gastrointestinales, alérgicos, dermatológicos, neurológicos y psicológicos (Salazar y Aldana, 2011). Además, estudios han evaluado la interacción que ejerce el subproducto AMPA y el adyuvante POEA en la salud de la población, y se observó que ambas moléculas de manera individual o sinérgica, dañan las membranas celulares humanas y amplifican la toxicidad ya inducida por el glifosato a través de apoptosis y necrosis (Nora Benachour & Séralini, 2009).

Además de los efectos citotóxicos, se sugiere que los herbicidas a base de glifosato pueden interrumpir diversos sistemas de señalización endócrina, incluyendo vías como las del estrógeno y pudiendo por ello, ejercer efectos proliferativos en cáncer de mama dependiente de hormonas (Thongprakaisang et al., 2013).

4.2 Maíz transgénico resistente a insectos.

Después de las variedades con tolerancia a herbicidas, los cultivos resistentes a insectos son el rasgo más utilizado en plantas transgénicas, comunes en cultivos de maíz y algodón (GMO Compass, 2015).

Riesgos a la salud.

Los posibles riesgos a la salud humana por exposición o consumo a las toxinas Cry, comúnmente llamadas Bt, se han considerado como mínimos, aunque hubo muy pocos estudios sobre su inocuidad antes de comercializarse; aun así, las autoridades sanitarias en Estados Unidos no han autorizado que todos los cultivos que expresan toxinas Cry sean usadas para consumo humano, pues algunas de ellas son sumamente termoestables, lo cual aumenta el riesgo de alergenicidad (Alavez et al., 2013).

Existen estudios que han demostrado que las proteínas Cry pueden ser alergénicas y disruptoras del sistema inmune de mamíferos (Vázquez-Padrón et al., 2000), mientras que en otros estudios de alimentación de ratas con este tipo de proteína o

con el maíz transgénico que la produce, se han reportado cambios metabólicos significativos (Finamore et al., 2008).

Entre algunos casos en donde se ha detectado la posible presencia de alérgenos producidos en cultivos GM, tenemos el caso de la soya transgénica RI, en donde las pruebas realizadas al cultivo no fueron suficientes para discriminar las posibles variaciones en 16 proteínas alérgicas que ocurren en la soya (Padgett et al., 1996), ya que al comparar los perfiles proteicos de las variedades de soya transgénica y no transgénica, se encontró un aumento de 26,7% en la cantidad del inhibidor de tripsina, considerado alérgico (Onofre, 2009). Otro ejemplo se dio en Estados Unidos, en la cadena alimentaria, donde se encontraron trazas de la proteína *Bt Cry9C* de un maíz transgénico (Starlink) no autorizado para consumo humano, lo que provocó problemas de reacciones alérgicas (Bucchini y Goldman, 2002).

Además, se ha demostrado que el ADN foráneo y sus proteínas pueden no degradarse y persistir en el tracto intestinal e inclusive ser absorbidos por los intestinos y transportados por la sangre a los órganos internos (Wilcks, 2004). Un ejemplo de esto último, se da con la toxina *Cry1Ab* que se ha detectado en mujeres embarazadas (28 de 30 casos), en mujeres no embarazadas (27 de 39 casos) e incluso en cordones fetales (24 de 30 casos) (Aris y Leblanc, 2003).

Bernstein et al. (1999) evaluaron a jornaleros agrícolas expuestos y no expuestos directamente a la aspersión de suspensiones de esporas *Bt*, encontrando que los trabajadores altamente expuestos fueron los que dieron pruebas cutáneas positivas a varios extractos de esporas, las cuales aumentaron significativamente meses después de la exposición inicial, causando atopias (alergias mediadas por el efecto de anticuerpos IgE) a trabajadores con exposición intermedia, baja y alta.

En 2007 se aplicó una metodología estadística apropiada para probar los efectos del maíz *Bt* sobre la salud de mamíferos, por lo que se emplearon ratas que fueron alimentadas con maíz GM MON863, y fueron comparadas con sus controles

isogénicos más cercanos; se incluyeron 6 grupos de referencia para comparar con los resultados de un estudio realizado por la compañía Monsanto. Los resultados mostraron toxicidad renal en ratas macho alimentadas con el maíz GM, para ambos sexos se encontró disrupción endócrina, lo que explica la mayor sensibilidad en riñones de ratas macho y sensibilidad en el hígado de las hembras, debido a que la detoxificación hepática es dependiente de las hormonas (Séralini, Cellier y De Vendomis, 2007).

En 2012 se realizó un estudio que evaluaba los cambios morfológicos y bioquímicos en ratas alimentadas con maíz Bt. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos alimentados con maíz convencional y los que fueron alimentados con maíz GM; en general, el grupo alimentado con el maíz MON810 sufrió varios cambios en el peso de algunos órganos como riñón, corazón e hígado, así como cambios en los niveles de varias proteínas del suero y otros indicadores bioquímicos (Gab-Alla, 2012).

Afectación a organismos no blanco y resistencia de insectos a las proteínas

Cry.

Los organismos no diana son individuos que no son el objetivo directo de los OGM's (Álvarez-Buylla et al., 2013). Muchos plaguicidas carecen de selectividad real, y esto puede repercutir, afectando a diversos grupos de organismos, entre los que destacan comunidades vegetales terrestres, acuáticas, artrópodos, aves y mamíferos (Pérez, 2015).

En cuanto a la tecnología Bt, existe la posibilidad de que la toxina pueda afectar a insectos no blanco, a pesar de que estas toxinas se consideran específicas; hay varios factores por los que podría haber surgido este riesgo: las altas concentraciones de toxina Bt en el polen de las especies en donde se aplica la misma, cambio de la proteína en los diferentes híbridos de plantas que resulta en la producción de variantes de la toxina y la larga duración de la producción de la toxina en la planta a diferencia de lo que duraba aplicándola mediante sprays (Fernández, 2014).

El peligro de la toxina en el polen no se queda sólo en el cultivo y en las especies de insectos que puedan estar viviendo en él o pasar a través de él en un momento dado, sino que algunas plantas utilizan el aire como medio de polinización, y aunque la distancia viajada sea pequeña, puede ser suficiente para llegar a terrenos adyacentes donde los cultivos ya no son transgénicos, o es un terreno con vegetación natural y afectan a insectos que no son objetivos en esas zonas (Fernández, 2014).

Otro problema es la generación de resistencia en insectos para las proteínas Bt; por ejemplo, Gassmann et al. (2011) observó que poblaciones de gusanos que crecen en la raíz de las plantas de maíz, se han vuelto resistentes al consumo del maíz que produce la proteína *Cry3Bb1*.

Se han reportado alrededor de 536 especies de artrópodos, 60 géneros de hongos fitopatógenos, 174 especies de malezas resistentes a algún tipo de pesticida o herbicida y más de 17 especies de insectos que han desarrollado resistencia contra toxinas Bt aplicadas por aspersión (Chaparro, 2011).

Algunos de los insectos resistentes a plaguicidas que se han detectado están: *B. fusca* en Sudáfrica, *Helicoverpa zea* en el Sur-Este de los Estados Unidos, *Spodoptera frugiperda* en Puerto Rico, el gusano rosado *Pectinophora gossypiella* resistente al algodón Bt en la India y *Diabrotica virgifera* que presenta resistencia al maíz Bt en los EE.UU. (Van den Berg, 2012; Tabashnik & Rensburg, 2009).

Capítulo 5: El maíz transgénico en México.

Al fin, Quetzalcóatl llegó hasta el sitio en donde se encontraba el maíz y, tomando un dorado grano entre sus pequeñas mandíbulas, emprendió el camino de regreso. Al llegar a su pueblo entregó a los aztecas aquel pequeño grano de maíz, ellos lo plantaron y cuidaron con esmero hasta que éste brotó de la tierra. Desde entonces el maíz fue la base alimenticia de los aztecas, alimento sagrado que ha nutrido a las generaciones. - Mito azteca.

5.1 Antecedentes.

En el año 2000, en muestreos sobre materiales nativos de Oaxaca, Quist y Chapela (2001), encontraron la presencia de transgenes en razas de maíz de Oaxaca, lo que provocó una gran polémica; siendo la reacción inicial por parte de las autoridades mexicanas, así como de un sector de científicos, el cuestionar los resultados reportados, dando poca credibilidad a los planteamientos y a la metodología. Se trató de limitar la difusión de estas noticias, devaluando la información, sin embargo después de que varias instituciones y grupos de investigación realizaron nuevos muestreos y análisis para determinar las probables contaminaciones (p.e. el trabajo de A. Piñeyro y colaboradores en 2009), se llegó en todos los casos, a la definición de que lo que había señalado el trabajo de Quist y Chapela fue correcto (Espinosa, 2010). A partir de este hallazgo se comenzó a dar una mayor importancia a realizar biomonitoreos y a exigir la aplicación de los acuerdos de bioseguridad, con el fin de impedir que se dieran más casos como el de Oaxaca. Sin embargo, estudios posteriores realizados por otros investigadores e instituciones, han encontrado la presencia de maíz GM en Oaxaca y en otros estados de nuestro país (Mercer & Wainwright, 2008; INECC, 2015).

5.2 Eventos transgénicos aprobados para consumo animal y humano en nuestro país.

En nuestro país la COFEPRIS ha autorizado hasta la fecha 146 cultivos transgénicos, de los cuales sobresale el maíz con 68 variedades autorizadas, el algodón con 33 variedades y finalmente la soya con 22 variedades.

En cuanto a las variedades de maíz aprobadas por la COFEPRIS, el 28.57% corresponde a transgénicos sencillos, es decir, con un sólo transgén en su construcción; y el 71.43% a variedades transgénicas denominadas “apiladas”, en donde el evento contiene dos o más transgenes (COFEPRIS, 2015). En cuanto a las variedades transgénicas apiladas, los transgénicos con dos genes en su construcción ocupan el primer lugar con el 31% y las variedades de tres genes o superiores a tres genes abarcan un 20% cada una (COFEPRIS, 2015). En el Anexo II se muestran los eventos transgénicos de maíz aprobados en México, Estados Unidos y Sudáfrica para consumo humano y animal.

5.3 Siembras piloto y experimental aprobadas en México.

En 2009 el Gobierno Mexicano otorgó 24 permisos para la siembra experimental de maíz transgénico a varios consorcios semilleros multinacionales. Estos experimentos se realizaron en campo a partir del ciclo otoño-invierno 2009-2010 en los estados de Sinaloa, Sonora, Chihuahua y Tamaulipas (SENASICA, 2010).

México es el único país que permite la siembra de transgénicos con su semilla principal y en donde ese cultivo es Centro de Origen y Diversidad y cultivo de importancia fundamental para la seguridad alimentaria mundial; por ejemplo, en Europa no hay especies nativas de maíz como las hay en México y América Latina, por lo que el riesgo que representan los cultivos modificados genéticamente para la diversidad de maíces nativos es mucho más grande en nuestro país, de lo que pudiera ser en cualquier otra parte del mundo (Chávez, 2013). Sin embargo, hasta el 2015, se han concedido 461 permisos que se distribuyen en 7 cultivos, siendo el algodón el que ocupa la primera posición con 196 siembras, seguido del maíz con 194 (Tabla 12).

Tabla 12: Permisos autorizados para siembras piloto y experimentales en nuestro país.

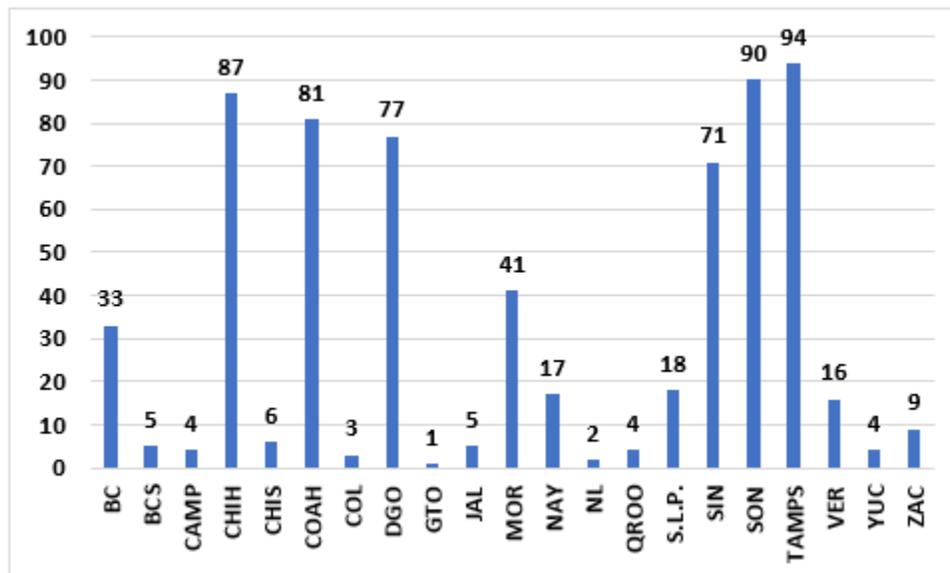
Permisos autorizados (siembras piloto y experimental) 2008-2014								
Compañía	Algodón	Alfalfa	Frijol	Limón mexican o	Maíz	Soya	Trigo	Total de permisos por empresa
Bayer México S.A de C.V.	108	0	0	0	0	3	0	111
CIMMYT	0	0	0	0	0	0	36	36
CIMMYT INT	0	0	0	0	0	0	5	5
Dow AgroScience	1	0	0	0	5	0	0	6
Dow AgroScience /PHI México S.A. de C.V.	0	0	0	0	38	0	0	38
Forage Genetics de México S. de R. L. de C. V.	0	1	0	0	0	0	0	1
INIFAP	0	0	1	0	0	0	0	1
CINVESTAV	0	0	0	3	1	0	0	4
Monsanto Comercial S.A de C.V.	87	0	0	0	18	13	0	118
PHI México S.A. de C.V.	0	0	0	0	60	9	0	69
Semillas y Agroproductos Monsanto, S.A. de C.V.	0	0	0	0	29	0	0	29
Semillas y Agroproductos Monsanto S.A. de C.V. y Monsanto Comercial	0	0	0	0	17	0	0	17
Syngenta Agro, S.A de C.V.	0	0	0	0	26	0	0	26
Total por tipo de cultivo	196	1	1	3	194	25	41	461

Elaborado con datos de (SAGARPA-SENASICA, 2015).

En cuanto al número de hectáreas asignadas para siembra experimental y piloto por empresa, Monsanto S.A. de C.V. ocupa el primer lugar, seguida de Bayer México S.A. de C.V. (SAGARPA-SENASICA, 2015).

Finalmente, de 2008 a 2014, se tiene que los estados en donde se han presentado un mayor número de autorizaciones para sembrar maíz transgénico de manera experimental o piloto se encuentran en Tamaulipas con 94 siembras, Sonora con 90, así como Chihuahua y Coahuila con 87 y 81 permisos respectivamente (SAGARPA-SENASICA, 2015).

Figura 8: Total de siembras permitidas de OGM por estado (2008-2014).



Elaborado con datos de (SAGARPA-SENASICA, 2015).

5.4 Casos reportados de presencia de maíz transgénico en México.

En la página web llamada GM Contamination Register (<http://www.gmcontaminationregister.org>) se publican los principales casos de contaminación por presencia de OGM's, ya sea por dispersión de genes o siembras ilegales; en donde para nuestro país se registran 9 casos, de los cuales 6 corresponden a la presencia de cultivos de maíz GM: Detección de maíz GM en Oaxaca (2001-2004), Chihuahua, Morelos, Durango, Estado de México, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz (2001), Oaxaca, Puebla, Chihuahua, Morelos, Estado de México, San Luis Potosí, Durango, Tlaxcala y Veracruz (2003) y Sinaloa (2006); descarrilamiento de maíz GM que se estaba transportando en Veracruz (2005); y siembra ilegal de maíz GM en Chihuahua (2007).

En el Anexo III: Casos de presencia de maíz transgénico en México, se describen datos de presencia de maíz GM en nuestro país, recolectados de múltiples fuentes que van desde artículos y tesis, hasta reportes de instituciones, entre otras.

Materiales y Métodos.

Métodos.

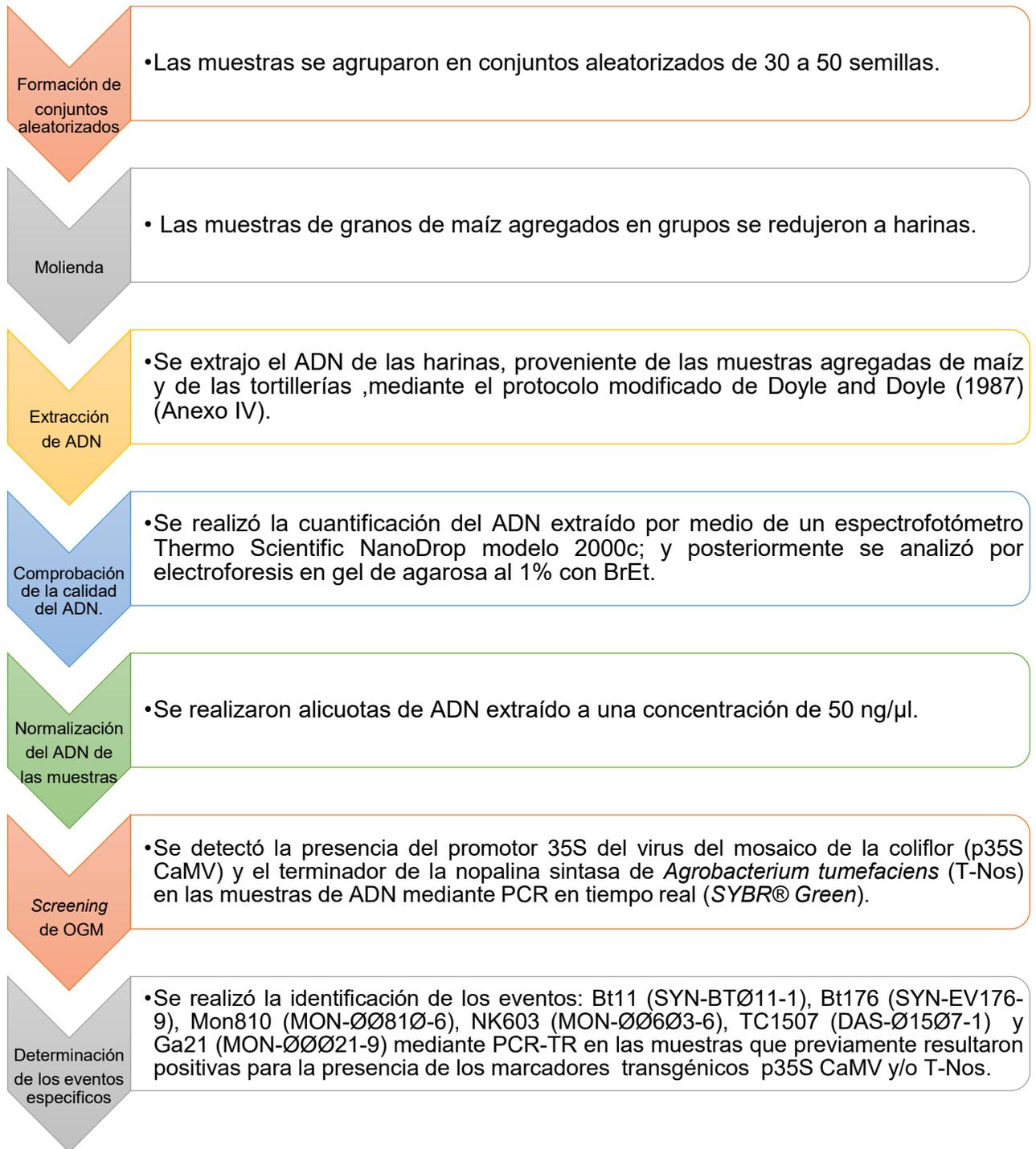
El proceso general de extracción de ADN, detección e identificación de secuencias transgénicas en muestras de grano, harina de maíz y alimento para mascotas fue realizado de acuerdo al esquema de la Figura 9.

Se empleó la estrategia de escrutinio de organismos genéticamente modificados (OGM's), que consiste en identificar la presencia de la secuencia genética correspondiente al promotor CaMV 35S y/o terminador NOS mediante PCR en tiempo real (*SYBR® Green*).

Las muestras que resultaron positivas para la presencia de alguno o ambos marcadores transgénicos, fueron posteriormente analizadas para identificar la presencia de los eventos transgénicos específicos de maíz: Bt11, Bt176, Ga21, MON810, NK603 y TC1507.

Finalmente, se cuantificó el contenido de material transgénico de 46 muestras colectadas en tortillerías de la Ciudad de México.

Figura 9: Diagrama de flujo para el proceso general empleado en la detección e identificación de secuencias transgénicas en maíz.



Muestras de maíz colectadas.

Las características de las muestras colectadas son:

a) **Mazorcas de maíz provenientes de diversos estados de la República Mexicana (2013-2016):** Se colectaron 437 muestras de maíz provenientes de 18 estados de la República Mexicana, de las cuales 314 fueron referidas por las personas que cedieron las muestras como variedades criollas y 123 muestras como híbridas. Para la sistematización de la información sobre las características de las muestras colectadas para la realización de este estudio, se respetó el dato referido por la persona que cedió cada muestra de maíz en cuanto al tipo de maíz del que se trataba (maíz criollo o maíz híbrido). Dependiendo de la cantidad de granos de maíz por cada muestra, para su procesamiento en la elaboración de harinas y a partir de estas realizar la extracción de ADN, se formaron conjuntos aleatorizados de 30-50 semillas. El agrupar las muestras en conjuntos aleatorizados tuvo como finalidad el obtener un conjunto representativo de la muestra, lo cual se traduce en una mayor probabilidad de detección de una secuencia recombinante en la muestra bajo estudio, sin tener que analizar cada grano de la mazorca de manera individual.

b) **Muestras de maíz provenientes del Estado de Nayarit, producidas bajo el sistema de agricultura por contrato:**

Durante 2013-2015, se muestrearon 80 predios en 6 municipios del estado de Nayarit, en donde para ese período agrícola se practicó la modalidad de agricultura de maíz por contrato. Se entiende por agricultura por contrato a la práctica mediante la cual las agroindustrias contratan la producción primaria mediante contratos formales o verbales (Díaz, 2010). Los acuerdos más comunes en la agricultura por contrato son aquellos en que los productores ponen tierra y trabajo, mientras que las empresas aportan material de siembra, insumos químicos y/o asesoría técnica a crédito (Alfaro, 2007). En cada predio muestreado se trazó una matriz mediante la formación de

cuadrantes, los cuales se delimitaron mediante cuerdas y se enumeraron (p.e. de 1 a 80). Se generaron aleatoriamente 30 números correspondientes a los cuadrantes de cada matriz que fueron seleccionados y de los cuales se tomó una mazorca como muestra, esta se etiquetó, se desgranó y se recuperaron 30 granos para posteriormente organizarlos en muestras agregadas. Cada agregado está compuesto por 150 granos.

- c) **Muestras de maíz importado:** Se colectó maíz amarillo de una empresa privada que recibe y distribuye productos agrícolas (maíz, soya, sorgo). Los empleados de dicha empresa mencionaron que el maíz que distribuye la empresa es importado desde el cinturón maicero (Corn Belt) de los Estados Unidos proveniente de por los estados de Iowa, Illinois, Indiana, Nebraska, Kansas, Minnesota, Missouri, Dakota, Ohio, Wisconsin, Michigan y Kentucky (A. Jones L., Durand D., 1954). No se especificó por parte de los empleados de la empresa distribuidora, el origen puntual del maíz, es decir, el estado de la Unión Americana de donde provenía el cargamento.

- d) **Muestras de harina de maíz de tortillerías de la Ciudad de México:** Se colectaron aproximadamente 100 gramos de harina de maíz de un total de 162 tortillerías comerciales distribuidas en el territorio de la Ciudad de México.

Materiales de referencia.

En este estudio se emplearon Materiales de Referencia Certificados (MRC) generados por el IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) y por el ERM (European Reference Materials). Como controles positivos se emplearon 6 harinas de maíz transgénico certificadas de los eventos transgénicos específicos de maíz: Bt11, Bt176, Ga21, MON810, TC1507 y NK603; y como controles negativos se emplearon harinas certificadas que no contienen material transgénico de los eventos mencionados. En la tabla 13 se muestran las características de los MRC utilizados.

Tabla 13: Material de Referencia Certificado (MRC) utilizado para la detección e identificación de secuencias transgénicas.

Control Positivo	Control Negativo
<i>ERM-BF411f, Bt176 Maize (Level 5, 5% GMO)</i>	ERM-BF411a, Bt176 Maize (blank, 0% GMO)
<i>ERM-BF415f, NK603 Maize (Level 5, 5% GMO)</i>	ERM-BF415a, NK603 Maize (blank, 0% GMO)
<i>ERM-BF418d, TC1507 Maize (Level 3, 10% GMO)</i>	ERM-BF418a, TC1507 Maize (blank, 0% GMO)
<i>ERM-BF414f, GA21 Maize (Level 5, 5% GMO)</i>	ERM-BF414a, GA21 Maize (blank, 0% GMO)
<i>ERM-BF412f, Bt11 Maize (Level 5, 5% GMO)</i>	ERM-BF412a, Bt11 Maize (blank, 0% GMO)
<i>ERM-BF413ek, MON810 Maize</i>	ERM-BF413ak, MON810 Maize (blank, 0% GMO)

Limpieza del área de trabajo y material empleado.

Cabe señalar que para la elaboración de las pruebas experimentales se empleó el siguiente procedimiento:

Molienda: se emplearon vasos de licuadora para cada muestra de manera individual, con el fin de evitar contaminación cruzada. Cada vaso tras su uso se esterilizó químicamente empleando cloro al 20% y etanol al 70%.

Pesado: la harina de las muestras se pesó usando espátulas estériles y se depositó en tubos eppendorf de 2 ml estériles.

Llenado de la placa PCR: El Área del laboratorio en donde se llevaron a cabo los ensayos de PCR fue desinfectada, utilizando hipoclorito 20%, EtOH 70%, y la cámara fue irradiada con luz UV. De igual forma, todo el material a utilizar como tubos, pipetas, etc. fue descontaminado de manera similar.

Extracción y cuantificación del DNA a partir de la harina de maíz generada.

La calidad y pureza del ADN son dos características importantes en las pruebas de detección de secuencias transgénicas. Para extraer el ADN de la harina de maíz empleada para los análisis de monitoreo de presencia de OGM's, se empleó el protocolo modificado de Doyle and Doyle (Doyle and Doyle, 1990) (Anexo IV).

El método consiste en:

a) Lisis de la membrana celular: La ruptura de la membrana celular y nuclear se logra al tratar la muestra con una solución tampón de extracción, que contiene EDTA, Tris-HCl y CTAB. En este método, el detergente (CTAB) contenido en el tampón de extracción produce la lisis de la membrana. Dado que la composición de los lípidos y del detergente es similar, se posibilita que el CTAB solubilice a los lípidos y las proteínas al entrar en contacto con la membrana celular. Con una concentración salina determinada (generalmente NaCl), el detergente forma un complejo insoluble con los ácidos nucleicos. El EDTA es un componente quelante, que se une al magnesio, entre otros metales. El magnesio es un cofactor de la desoxirribonucleasa. Al unir el magnesio al EDTA, la actividad de la desoxirribonucleasa presente se anula; mientras que el Tris-HCl confiere a la solución la capacidad de amortiguar el pH, lo cual previene la degradación del ADN.

b) Extracción: En este paso se separan los complejos formados por los ácidos nucleicos, el CTAB, los polisacáridos, los compuestos fenólicos, las proteínas y los demás lisados celulares disueltos en la solución acuosa. Para lograr lo anterior se usa cloroformo, el cual desnaturaliza las proteínas y facilita la separación de las fases acuosa y orgánica. Una vez que se tiene aislada la fase acuosa, en donde se encuentra el ADN, se puede proceder a precipitarlo.

c) Precipitación: En esta etapa se separan los ácidos nucleicos del detergente, para ello se adiciona alcohol (isopropanol) a la fase acuosa, en el cual, el detergente es más soluble que en agua y puede eliminarse posteriormente mediante un lavado, mientras que a la par, los ácidos nucleicos precipitan. Tras el lavado, se trata al pellet de ADN con etanol al 70%, con el fin de obtener una mayor purificación o elución de los ácidos nucleicos de la sal residual.

Una vez extraído el ADN se determinó la concentración de ácidos nucleicos a partir de lecturas de absorbancias a 260 nm y 280 nm, empleando para ello un espectrofotómetro Thermo Scientific NanoDrop modelo 2000c. La interferencia de contaminantes puede determinarse calculando la relación de absorbancia a 260 nm/280 nm y 260 nm/230 nm. Los valores de ADN puro para el cociente $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ es de 1.8 nm aproximadamente, mientras que el cociente $A_{260\text{nm}}/A_{230\text{nm}}$

nm/230 nm el valor es de 2.2 nm (Ruíz, 2012). El valor de estas relaciones es importante dado que es indicador de la pureza del ADN. Un valor mayor en la relación A260 nm/280 nm es indicativo de la presencia de proteínas en la muestra de ADN; por otro lado, en caso de haber un valor mayor en el cociente A260 nm/230 nm sería indicativo de que la muestra se encuentra contaminada por hidratos de carbono, fenoles, compuestos aromáticos u otras sustancias (JRC., 2007).

Una vez comprobada la calidad del DNA extraído, es necesario normalizar los extractos de ADN de manera que todas las muestras se encuentren a la concentración requerida para el ensayo de qPCR. Tanto el ADN extraído como las alícuotas del mismo se etiquetaron y se conservaron en un freezer a -20°C hasta su uso.

Escrutinio de OGM mediante PCR en Tiempo Real (SYBR Green).

La PCR en Tiempo Real es capaz de detectar cualquier evento de transformación de cualquier cultivo GM, siempre y cuando se conozcan las secuencias del transgen de interés o las secuencias asociadas a este. Por otro lado, es una técnica sensible, ya que permite la amplificación de segmentos específicos del ADN presentes incluso en baja frecuencia (Ruíz, 2012).

La estrategia de escrutinio de OGM, permite evaluar de manera rápida la presencia o la ausencia de organismos genéticamente modificados en una muestra mediante la identificación de las secuencias mayormente presentes en los OGM's: los promotores y/o terminadores de los genes. En la transformación genética de plantas, los promotores y terminadores más utilizados son: el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y el terminador de la transcripción de la Nopalina Sintetasa (T-Nos) (Piñeyro-Nelson, 2007). En este trabajo se adoptó la estrategia de escrutinio de OGM's, el cual es un protocolo que ha sido validado como Método de Referencia por la Joint Research Centre (JRC) (Método QL-ELE-00-17).

La secuencia de los cebadores se encuentra descrita en el Compendio de métodos de referencia para el análisis de OGM de la Unión Europea (Van den Eede, 2011).

Tabla 14: Características de Promotor 35s y T-Nos (Guía JRC).

Secuencia Diana	Cebador	Secuencia 5'-3'	Tamaño amplicón	Ref.
p35S	CAMV 35S-F	GCCTCTGCCGACAGTGGT	82 pb	SC/ELE/012
	CAMV 35S-R	AAGGCGTGGTTGGAACGTCTT		
T-Nos	T-Nos F	CATGTAATGCATGACGTTATTTAT	84 pb	SC/ELE/012
	T-Nos R	TTGTTTTCTATCGCGTATTAATGT		

Las reacciones de qPCR se efectuaron en un volumen total de 7 µl, conteniendo: 2 µl de ADN molde (50 ng/µl), 3 µl de *SYBR® Green* PCR Mastermix con ROX (Life Technologies, Thermo Scientific) y 5mM de cada cebador. El ciclado se realizó en un termociclador ABI 7500 PCR System (Applied Biosystems), en cuyo software se introduce el programa específico de ciclado (40 ciclos): un único ciclo de activación de la enzima ADN polimerasa por 2 min 50°C y 10 min a 95°C, seguido de 40 ciclos de amplificación de 15 s a 95°C (desnaturalización), y 1 min a 60°C (alineamiento y extensión). Luego de finalizada la reacción de amplificación, se programa un ciclo para las curvas de fusión (curvas de melting) de los productos obtenidos. Para ello se programó 15 s a 95°C, 1 min a 60°C y 15 s a 95°C.

Consideraciones para la interpretación y el análisis de los resultados experimentales obtenidos.

Los valores de fluorescencia obtenidos para cada reacción fueron normalizados contra la señal de fluorescencia de la sonda de referencia interna ROX (referencia pasiva). La línea de base y el umbral (*threshold*) fueron calculados automáticamente por el Software StepOne v.2.3 de *Applied Biosystems*, salvo en algunas ocasiones en donde se recurrió al ajuste manual de estos parámetros. Para cada muestra se registró el ciclo umbral (Cq), correspondiente al número de ciclo en el que la fluorescencia generada por el *SYBR® Green* sobrepasó la línea de *threshold*.

Se establecieron cuatro criterios simultáneos para considerar a una muestra como positiva:

- a. Cuando la señal de fluorescencia obtenida sobrepasó la línea umbral de detección,
- b. Cuando se observó una señal detectable en el control positivo y no se observó fluorescencia en el control negativo (blanco),
- c. Cuando el número de Cq de la muestra no sobrepasó el ciclo número 30 (ciclo correspondiente al límite de detección de la técnica, el cual fue definido experimentalmente), y
- d. Cuando el producto de amplificación representó un único pico de temperatura en la curva de disociación (curva de *melting*), con un valor de *Tm* igual al obtenido para el respectivo control positivo. Para este parámetro se toleró una desviación de $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Identificación de eventos específicos de maíz mediante PCR en Tiempo Real (SYBR® Green).

Posterior al escrutinio de OGM's en las muestras de maíz, se procedió a realizar la identificación de los eventos transgénicos específicos de maíz mediante qPCR sobre las muestras que previamente resultaron positivas a la presencia de alguno o ambos marcadores transgénicos. Sin embargo, la limitación de esta estrategia consiste en que no es posible distinguir entre una muestra que contenga un evento transgénico apilado, por ejemplo, el evento MON810 x NK603, y una muestra que contenga eventos transgénicos individuales provenientes de la progenie.

Para este ensayo, se monitorearon seis eventos transgénicos de maíz aprobados para consumo humano y animal por la COFEPRIS (2015): Bt11 (SYN-BTØ11-1), Bt176 (SYN-EV176-9), MON810 (MON-ØØ81Ø-6), NK603 (MON-ØØ6Ø3-6), TC1507 (DAS-Ø15Ø7-1) y Ga21 (MON-ØØØ21-9). En la Tabla 15, se muestran las características de dichos cebadores.

Tabla 15: Cebadores empleados para la identificación de eventos de maíz (Guía JRC).

EVENTO	NOMBRE DEL CEBADOR	SECUENCIA 5´- 3´	TAMAÑO DEL AMPLICÓN	CaMV 35S	T-Nos
MON810	MON810-IVS-HSP-F	GATGCCTTCTCCCTAGTGTTGA	113 pb	Si	No
	MON810-CRY 1A(B)-R	GGATGCACTCGTTGATGTTTG			
Bt11	Bt11-INS-F	GCGGAACCCCTATTTGTTTA	70 pb	Si	Si
	Bt11-3´JUN-R	TCCAAGAATCCCTCCATGAG			
Ga21	GA 21-OTP-F	GAAGCCTCGGCAACGTCA	133 pb	No	Si
	GA 21-ESPS-R	ATCCGGTTGGAAAGCGACTT			
NK603	NK603-F	ATGAATGACCTCGAGTAAGCTTGTTAA	108 pb	Si	Si
	NK603-R	AAGAGATAACAGGATCCACTCAACACT			
TC1507	TC1507-F	TAGTCTTCGGCCAGAATGG	58 pb	Si	No
	TC1507-R	CTTTGCCAAGATCAAGCG			
Bt176	Bt-176- CryIA(b)-F	TGTTCAACCAGCAGCAACCAG	100 pb	Si	No
	Bt-176-IVS9PEPC-R	ACTCCACTTTGTGCAGAACAGATCT			

Cuantificación de la presencia de material GM mediante PCR en tiempo real (SYBR® Green) en harina de maíz de tortillerías de la Ciudad de México.

Se cuantificó la presencia de material GM en 46 muestras de harina de maíz provenientes de 162 tortillerías localizadas en distintos puntos de las 16 delegaciones de la Ciudad de México, mediante el método de las curvas patrón (cuantificación absoluta). Se elaboraron dos curvas patrón utilizando materiales de referencia, una para el gen de referencia endógeno de maíz *hmgA* (High Mobility Group Proteins) y una para el promotor CaMV 35S. El gen de referencia debe escogerse de manera que sea específico de la especie que se analiza, que esté presente en una sola copia por genoma haploide, representado como tal de manera estable en líneas diferentes de la misma especie y tan amplificable como los caracteres GM en el análisis (JRC., 2007).

Para determinar el porcentaje de OGM en un sistema basado en la PCR en Tiempo Real, es necesario medir el número de secuencias de ADN específicas del OGM y normalizarlo con el número de secuencias de un gen de referencia endógeno de la especie correspondiente. El porcentaje de OGM se calcula de la siguiente manera:

$$\text{OGM (\%)} = \frac{\text{nº de copias GM}}{\text{nº de copias de referencia}} \times 100$$

Para cada muestra, se determinan mediante interpolación con las curvas patrón, las cantidades correspondientes a la diana GM y al gen de referencia. Posteriormente, se calcula el porcentaje GM según la fórmula anterior. Para utilizar las curvas de calibración es necesario comprobar que las eficiencias de amplificación del ADN estándar y el de la muestra son comparables. El diseño de las curvas de calibración, su preparación, la determinación exacta de las concentraciones de los estándares, su estabilidad a largo plazo y su almacenamiento, son factores que pueden afectar los resultados, ya que la cuantificación del ADN mediante PCR en Tiempo Real depende especialmente de la precisión de los estándares empleados (Arleo, 2015).

Resultados

Colecta de Semillas de maíz proveniente de diversos estados de la República Mexicana (2013-2016).

Se colectaron 437 muestras de maíz, provenientes de 18 estados de la República Mexicana, en donde Nayarit, Michoacán, Oaxaca y Puebla son los estados en los que se colectó el mayor número de muestras (Figura 10); de algunos estados solo se colectaron 1 o 2 muestras (Guerrero, Sonora, Tabasco, Tamaulipas y S.L.P.). Como se mencionó anteriormente, la obtención de las muestras para este estudio no fue producto de un muestreo estratificado o aleatorio; las muestras se hicieron llegar al laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas en el Instituto de Ecología, UNAM, con el fin de determinar la presencia de secuencias transgénicas. Este estudio tuvo la intención de actualizar la información disponible sobre la presencia de secuencias transgénicas en maíz, con respecto a estudios previos (Piñeyro-Nelson et al., 2009; Dyer. et al., 2009; Serratos-Hernández et al., 2007; Álvarez-Buylla, 2004).

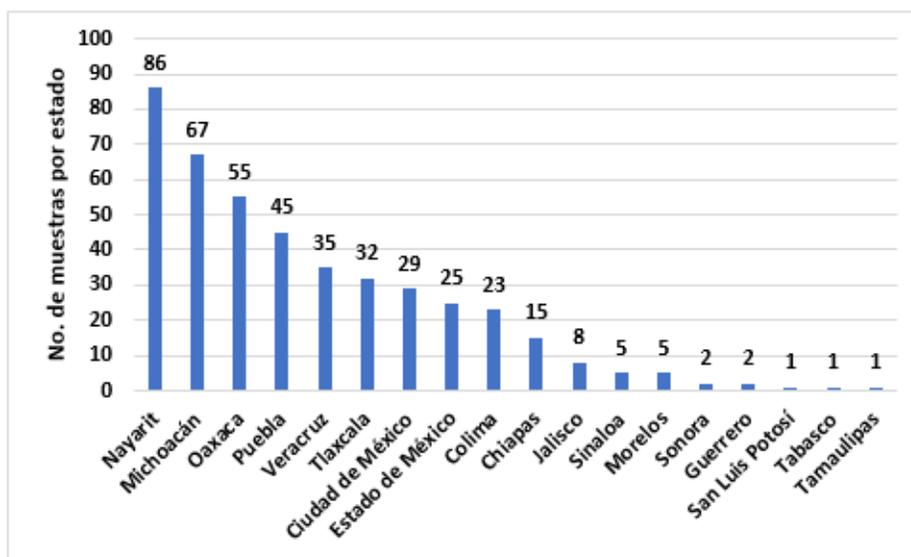


Figura 10: Número de muestras aportadas por estado de la República Mexicana.

Las muestras de maíz colectado se clasificaron de acuerdo a la información referida por las personas que cedieron las muestras, formando con ello dos grupos de maíces: muestras de maíz criollo (71% del total), y maíz híbrido (29% del total)

(Tabla 16). Las muestras correspondientes a variedades de maíz criollo son las más representadas en el total de las muestras, sin embargo, es necesario reiterar que esta clasificación se dio a partir de la información dada por los productores durante la entrega de la muestra, los cuales en algunos casos desconocían el nombre de la raza o variedad del maíz, por lo que no puede descartarse la posibilidad de que algunas de las muestras analizadas sean el resultado de algún proceso de hibridación con otras variedades a través del tiempo, por lo que podrían tratarse de “híbridos acriollados”.

Tabla 16: Distribución de las muestras por variedad de maíz.

Estado	Maíz Criollo	Maíz Híbrido	TOTAL
Chiapas	15	0	15
Colima	17	6	23
Ciudad de México	29	0	29
Estado de México	21	4	25
Guerrero	2	0	2
Jalisco	5	3	8
Michoacán	63	4	67
Morelos	5	0	5
Nayarit	13	73	86
Oaxaca	50	5	55
Puebla	38	7	45
San Luis Potosí	1	0	1
Sinaloa	1	4	5
Sonora	0	2	2
Tabasco	1	0	1
Tamaulipas	0	1	1
Tlaxcala	30	2	32
Veracruz	23	12	35
Total	314	123	437

Se incluyeron los datos obtenidos para las muestras colectadas en el estado de Nayarit bajo el sistema de agricultura por contrato, que se analizarán con más detalle en el siguiente apartado de este trabajo.

Análisis de la presencia de los marcadores transgénicos 35S y T-Nos en las muestras de maíz proveniente de los estados de la República Mexicana.

Se realizó el monitoreo de las secuencias transgénicas CaMV 35S y del terminador NOS. De las 437 muestras analizadas, 390 (89.24%) resultaron negativas a la presencia de alguno de los marcadores transgénicos, mientras que el 10.76% (n=47) resultaron positivas a la presencia de uno o ambos marcadores (Figura 11).

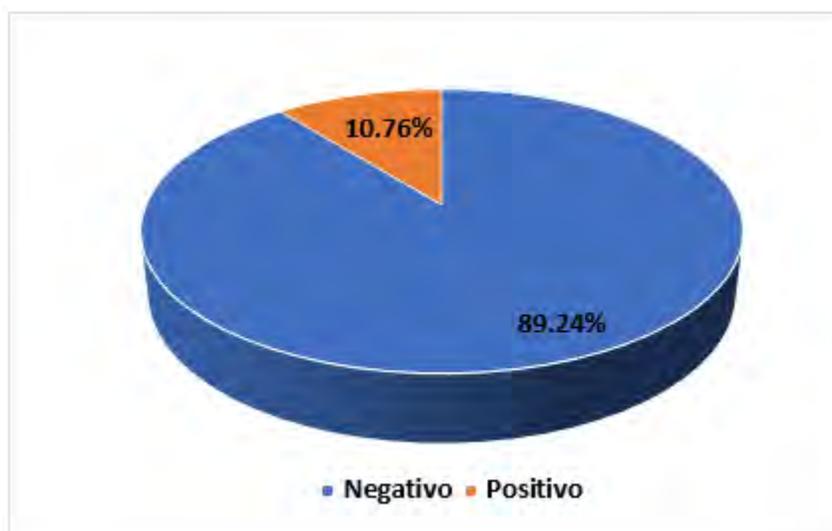


Figura 11: Porcentaje de muestras positivas a la presencia de CaMV 35S y T-Nos.

De las 47 muestras positivas para los marcadores transgénicos, en 14 (29.79%) de las muestras pudieron detectarse ambos marcadores, 22 muestras (46.81%) contenían solamente el marcador CaMV 35S y 11 (23.40%) de las muestras contenían únicamente marcador T-Nos (Tabla 17).

Al determinar la presencia de los elementos recombinantes por variedad de maíz (criollo o híbrido), se encontró que de las 47 muestras identificadas como positivas para uno o ambos marcadores transgénicos, 36 (76.6%) de las muestras son variedades criollas y 11 (23.4%) fueron identificadas como variedades de maíz híbrido.

Tabla 17: Distribución de los marcadores por tipo de maíz.

Variedad de maíz	CaMV 35S	T-Nos	CaMV 35S + T- Nos
Criollo	13	9	14
Híbrido	9	2	0
Total	22	11	14
%	46.81	23.40	29.79

La distribución en los distintos estados de la República Mexicana de las 47 muestras colectadas que resultaron positivas a la presencia de uno o ambos marcadores transgénicos (CaMV 35S y T-Nos), se ilustra en la Tabla 18. Las muestras positivas para secuencias transgénicas fueron detectadas en 12 de los 18 estados de los que se obtuvo muestras de maíz; en el estado de Colima, se detectaron 8 muestras positivas, mientras que para la Ciudad de México, Oaxaca, Nayarit y Veracruz se obtuvieron 6 muestras positivas a 35s y/o T-Nos cada uno.

En muestras obtenidas de localidades de estados como Oaxaca y Michoacán se detectó la presencia de secuencias transgénicas en 5 y 4 municipios respectivamente; en estados como Chiapas, Ciudad de México, Morelos, Nayarit y Veracruz se hallaron en 2 municipios; mientras que, en los estados de Tlaxcala, Sinaloa, Puebla, Estado de México y Colima la detección de las muestras positivas se dio en 1 municipio; todos dentro del total de municipios de donde se colectaron las muestras.

La presencia secuencias transgénicas de maíz en estas muestras nos reflejan la existencia de contaminación en variedades de maíz cultivado en nuestro país, sin embargo, dado que no derivan de un muestreo estratificado, estos resultados no permiten inferir que exista una contaminación a gran escala en los estados en donde hubo presencia de maíz GM, es decir, a partir de estos resultados no podemos señalar que la contaminación sea en todo el estado.

Tabla 18: Muestras positivas para 35S y T-Nos por municipio.

Estado (No. total de muestras)	Municipio/Delegación	Criollo	Híbrido
Chiapas (N=15)	Ocosingo (n=6)	2	0
	San Andrés (n=3)	0	0
	Cabecera Municipal de Jericó Sur (n=1)	0	0
	Nicolás Ruiz (n=1)	0	0
	Los Altos (n=1)	0	0
	San Juan Chamula (n=1)	1	0
Colima (N=23)	N.D. (n=2)	0	0
	Ejido La Esperanza, Tonina (n=6)	0	0
Ciudad de México (N=29)	N.D. (n=17)	8	0
	Milpa Alta (n=25)	5	0
	Xochimilco (n=3)	0	0
Estado de México (N=25)	Ajusco Moctezuma (n=1)	1	0
	Santa María del Norte (n=6)	0	0
	Temascalcingo (n=9)	1	0
	Coyotepec (n=4)	0	0
	Tlalmanalco (n=1)	0	0
	Malinalco (n=1)	0	0
	Juchitepec (n=1)	0	0
Michoacán (N=67)	N.D. (n=3)	0	0
	Cuaroti (n=1)	0	0
	Erongarícuaro (n=17)	1	0
	Morelia (n=8)	1	0
	Ocampo (n=4)	0	0
	Pátzcuaro (n=3)	0	0
	Susupuato (n=9)	1	0
	Tingambato (n=9)	0	0
	Tzintzuntzan (n=1)	0	0
	Uruapan (n=1)	0	0
	Ziracuaretiro (n=1)	0	0
	Zirahuén (n=1)	0	0
	Zitácuaro (n=12)	2	0
Morelos (N=5)	Almilcingo Temoa (n=4)	1	0
	Morelos (n=1)	1	0
Nayarit (N=86)	Ahuacatlán (n=10)	0	0
	Amatlán de Cañas (n=10)	0	0
	Compostela (n=12)	0	1
	Jala (n=4)	0	0

	San Pedro Lagunillas (n=27)	0	5
	Santa María del Oro (n=12)	0	0
	Santiago Ixcuintla (n=9)	0	0
	N.D. (n=2)	0	0
Oaxaca (N=55)	Chinalapa (n=4)	1	0
	Cuilápán de Guerrero (n=2)	1	0
	Ixtlán (n=1)	0	0
	Juchitepec (n=2)	0	0
	Magdalena Etla (n=2)	0	0
	Oaxaca (n=2)	0	1
	Pochutla (n=6)	0	0
	San Andrés Paxtlán (n=1)	0	0
	San Jerónimo Silacayoapilla (n=1)	0	0
	San Mateo Maculóchitl (n=1)	0	0
	San Miguel Tulancingo (n=6)	0	0
	San Miguel Soyaltepec (n=2)	0	0
	San Sebastián Río Hondo (n=2)	0	0
	Santiago Janiltepec (n=1)	0	0
	Teotitlán (n=21)	2	0
	N.D. (n=1)	0	1
Puebla (N=45)	Chichiquela (n=2)	0	0
	Huejotzingo (n=19)	1	0
	Huettamalco (n=1)	0	0
	La fragua (n=6)	0	0
	Puebla (n=2)	0	0
	San Andrés Payuca (n=1)	0	0
	Tepoztlán (n=3)	0	0
	Tlalchichuca (n=5)	0	0
	N.D. (n=6)	0	0
Sinaloa (N=5)	Ahome (n=1)	0	0
	Guasave (n=3)	0	1
	Miahuatlán (n=1)	0	0
Tlaxcala (N=32)	Ixtenco (n=19)	0	0
	Huamantla (n=8)	0	0
	Nazaria Hdz (n=2)	2	0
	Vicente Guerrero (n=3)	0	0
Veracruz (N=35)	Jalapa (n=3)	0	0
	San Gabriel (n=1)	0	0
	Soteapan (n=8)	1	0
	Tlachichilco (n=2)	0	0
	Tlalnelguayocan (n=19)	3	2
	N.D. (n=2)	0	0

ND: No Disponible.

Como se puede observar en la tabla anterior, la presencia de maíz GM se dio en distintos municipios en los 12 estados en donde se detectó la presencia de secuencias transgénicas de maíz, sin embargo, para algunas muestras no está disponible el dato sobre el municipio de donde procede la misma; y esto se debe a que en ocasiones los productores que nos hacían llegar las muestras solo ponían como referencia el estado de donde era el maíz, pero no especificaban la localidad.

Identificación de eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras procedentes de distintos estados de la República Mexicana que resultaron positivos a los marcadores 35S y T-Nos.

Las muestras que previamente resultaron positivas para la presencia de alguno de los elementos recombinantes P35s y/o T-Nos, fueron analizadas para determinar el tipo de evento transgénico presente. Se analizaron 5 eventos transgénicos: Bt11, Bt176, MON810, NK603 y TC1507; los cuales son eventos transgénicos específicos de maíz liberados en Estados Unidos desde hace 15 años (p.e. MON810 y NK603) (ISAAA, 2015) y en México desde el año 2002 (COFEPRIS, 2016).

El evento MON810 que otorga resistencia a insectos lepidópteros fue el evento transgénico que se encontró en mayor cantidad en las variedades de maíz criollo: en 14 (38.8%) del total de 36 muestras de maíz criollo que resultaron positivas; mientras el evento NK603 se detectó en 27.78% (n=10) de las muestras.

De igual manera se analizó la presencia de eventos transgénicos específicos de maíz en las 11 muestras de maíz híbrido que previamente habían resultado positivas a los marcadores P35s y/o T-Nos. Los eventos MON810, TC1507 y Bt11 se identificaron en un 18.18% (2 de 11 muestras) de los casos. No se detectó la presencia del evento transgénico Bt176 en ninguna de las muestras de maíz analizadas. Es importante resaltar que las líneas MON810 y NK603 se encontraron mayoritariamente en las muestras positivas de maíz criollo, mientras que en las muestras positivas de maíz híbrido, los eventos MON810, TC1507 y Bt11 compartieron la misma categoría.

Por otro lado, este trabajo no logró identificar el o los eventos transgénicos presentes en un número considerable de muestras que previamente habían resultado positivas para alguno o ambos marcadores transgénicos (35S y T-Nos). Dicha situación sugiere la presencia de otras variedades de maíz GM en el campo mexicano y que no fueron monitoreadas en este estudio (Tabla 19). De los 68 eventos transgénicos aprobados para consumo humano y animal en nuestro país, 66 de estos incluyen los elementos transgénicos monitoreados 35S y T-Nos como parte del transgen. Los dos eventos transgénicos restantes no contienen ninguna de estas dos secuencias transgénicas (35S y T-Nos), por lo que los eventos DAS40278 (tolerancia al herbicida 2,4-D) y LY038 (modificado para incrementar la producción del aminoácido lisina) quedarían excluidos de este estudio. Adicionalmente, 49 de los 66 eventos transgénicos en maíz contienen al menos uno de los siguientes cinco eventos transgénicos monitoreados: Bt11, MON810, NK603, TC1507 y GA21 (analizado en trabajos posteriores), ya sea de manera individual o como eventos transgénicos apilados. Para realizar el monitoreo e identificación de los 17 eventos transgénicos específicos de maíz restantes de la lista de 66 variedades de maíz transgénico aprobado en México, tendrían que emplearse iniciadores específicos para la detección específica de dichas líneas transgénicas.

Tabla 19: Monitoreo de los eventos específicos de maíz en las muestras de granos de estados de la República previamente positivos a 35S y T-Nos.

Tipo de maíz	Evento	Chi	Col	CdMx	Edo de Mex	Mich	Mor	Nay	Oax	Pue	Sin	Tlax	Ver	%
Maíz criollo	MON810	1	1	6	0	2	1	0	1	0	0	0	2	29.7
	TC1507	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	10.6
	NK603	3	3	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	21.2
	Bt11	1	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	0	10.6
	Bt176	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sin identificar	0	4	0	1	3	0	0	3	1	0	2	2	34
Maíz híbrido	MON810	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	4.2
	TC1507	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	4.2
	NK603	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bt11	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	4.2
	Bt176	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sin identificar	0	0	0	0	0	0	3	2	0	1	0	1	14.9

Como se comentó con anterioridad, estas muestras de maíz se obtuvieron de manera puntual, es decir, no se obtuvieron por medio de un muestreo estratificado, lo que explica el efecto de sobre representación de muestras entre estados, y como se ha venido comentando anteriormente, la intención de este trabajo era realizar un tamiz con el fin de comprobar la existencia de maíz GM en el campo mexicano, como el visto en investigaciones anteriores sobre monitoreo de material transgénico en maíz; sin embargo, sería necesario ampliar y realizar un muestreo estratificado y robusto con el fin de evaluar el mayor número posible de localidades por estado y así obtener el panorama más completo sobre la presencia de maíz GM en las distintas entidades federativas que componen a nuestro país.

Monitoreo de maíz híbrido producido bajo el régimen de agricultura por contrato.

Con el objetivo de evaluar la situación del maíz que se siembra bajo el sistema de agricultura por contrato, se colectaron muestras de maíz provenientes de 80 predios en 6 municipios del estado de Nayarit. Se entiende como agricultura por contrato a la práctica mediante la cual las agroindustrias, contratan la producción primaria mediante contratos formales o verbales (Díaz, 2010), en donde los acuerdos más comunes son aquellos en que los productores ponen tierra y trabajo, mientras que las empresas aportan material de siembra, insumos químicos y/o asesoría técnica a crédito (Alfaro, 2007).

Las muestras se colectaron en los municipios de: Ahuacatlán, Amatlán de Cañas, Compostela, Santa María del Oro, San Pedro Lagunillas, y Santiago Ixcuintla. El 91% de las muestras provenientes de dichos municipios son variedades de maíz híbrido comercial, mientras que el 9% restante de las muestras de maíz corresponden a variedades criollas de maíz. La mayor cantidad de muestras tanto híbridas como criollas se colectaron en el municipio de San Pedro Lagunillas (Tabla 20). Por razones fuera del control del laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas en el IE, no fue posible colectar el número de muestras originalmente considerado para esta parte del estudio, por lo que la cantidad de muestras de maíz obtenidas de cada uno de los municipios varía de manera distinta.

Tabla 20: Distribución de las muestras de maíz colectadas en los municipios de Nayarit de acuerdo a la variedad de maíz.

Municipio	Criollo	Híbrido	Total
Ahuacatlán	-	10	10
Amatlán de Cañas	-	10	10
Compostela	-	12	12
San Pedro Lagunillas	5	22	27
Santa María del Oro	-	12	12
Santiago Ixcuintla	2	7	9
Total	7	73	80

Detección de los elementos transgénicos CaMV 35S y T-Nos en las muestras de maíz procedentes del estado de Nayarit.

Se determinó la presencia de los marcadores transgénicos CaMV 35S y T-Nos en las muestras procedentes de Nayarit de acuerdo al protocolo establecido en página 68. Del total de 80 muestras, el 7.5% (n=6) resultó positivo solamente al marcador CaMV 35S, mientras que ninguna muestra resultó positiva para el terminador NOS (T-Nos) (Figura 12).

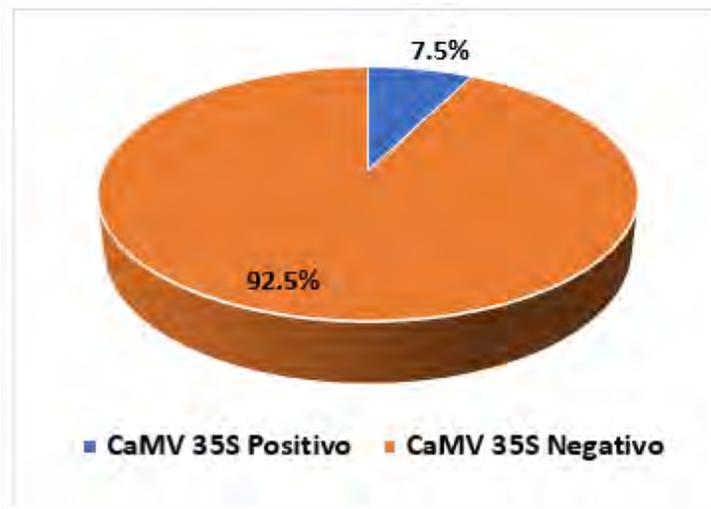


Figura 12: Porcentaje de muestras positivas al marcador transgénico CaMV 35S.

Del total de 80 muestras colectadas, sólo 6 muestras de maíz híbrido resultaron positivas únicamente a la presencia del marcador CaMV 35S y se encontraron en los municipios de Compostela y San Pedro Lagunillas, con 1 y 5 muestras positivas para el promotor 35S, respectivamente (Tabla 21).

Tabla 21: Distribución de muestras positivas para el marcador 35S en los municipios muestreados, de acuerdo a la variedad de maíz.

Municipio	Número de muestras positivas				Total positivos
	Maíz criollo		Maíz híbrido		
	CaMV 35S	T-Nos	CaMV 35S	T-Nos	
Ahuacatlán (N=10)	-	-	-	-	0
Amatlán de Cañas (N=10)	-	-	-	-	0
Compostela (N=12)	-	-	1	-	1
San Pedro Lagunillas (N=27)	-	-	5	-	5
Santa María del Oro (N=12)	-	-	-	-	0
Santiago Ixcuintla (N=9)	-	-	-	-	0
Total	0	0	6	0	6

Identificación de los eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras procedentes del estado de Nayarit que previamente resultaron positivas para el escrutinio de elementos transgénicos CaMV 35s y T-Nos.

Con el objetivo de identificar el evento de maíz transgénico presente en las 6 muestras que resultaron positivas para la presencia del promotor CaMV 35S provenientes de los municipios de Compostela y San Pedro Lagunillas del estado de Nayarit, se realizaron ensayos de PCR tiempo real para monitorear los eventos transgénicos específicos de maíz: Bt11, Bt176, Ga21, MON810, NK603 y TC1507.

Los eventos Bt11 y TC1507 se encontraron en 2 muestras (33.33%) del total, mientras que el evento MON810 se encontró sólo en una muestra (16.67%). Los eventos Bt176, Ga21 y NK603 no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas que anteriormente habían resultado positivas para el marcador 35S. De manera significativa, para 3 muestras (50%) que previamente resultaron positivas para el promotor CaMV 35s, no pudo identificarse ninguno de los eventos monitoreados en este trabajo (Tabla 22). Este dato indica la presencia de eventos transgénicos en maíz distintos a los monitoreados en este trabajo.

Tabla 22: Resultados de los eventos transgénicos específicos por municipio.

Municipio	MON810	BT176	TC1507	NK603	Bt11	Ga21	Sin identificar
Compostela (N=12)	-	-	-	-	-	-	1
San Pedro Lagunillas (N=27)	1	-	2	-	2	-	2
Total	1	0	2	0	2	0	3

Las muestras de maíz híbrido que resultaron positivas al marcador 35S se encontraron en tres variedades comerciales: DK 20-27, Semex y 75-73 asgrow, en donde esta última fue la variedad en donde se obtuvieron más muestras positivas (n=3); por lo que sería recomendable realizar un muestreo mayor a esta variedad con el fin de saber si esto fue un caso aislado o en realidad esta marca de maíz híbrido comercial se encuentra contaminada al igual que las otra dos variedades de maíz en donde encontramos secuencias transgénicas de maíz.

Tabla 23: Combinaciones de eventos transgénicos en las muestras de maíz híbrido de Nayarit.

Combinaciones	DK 20-27	Semex	75-73 asgrow	Total
MON810/TC1507/Bt11	1	-	-	1
TC1507	-	-	1	1
Bt11	-	-	1	1
Ninguno	1	1	1	3
Total	2	1	3	6

Es importante señalar que, aunque el muestreo no se pudo efectuar en su totalidad y solo se obtuvieron 80 muestras de maíz de 6 municipios del estado de Nayarit, los resultados obtenidos reflejan la presencia de secuencias transgénicas en maíces híbridos comerciales, que se están sembrando en el campo mexicano por pedido de empresarios de la agroindustria. Debemos tener muy en consideración, que este maíz “contaminado” puede ser una fuente de dispersión de secuencias transgénicas para otros maíces tanto criollos como híbridos.

Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en maíz amarillo importado de Estados Unidos.

A través del tiempo, la tasa de importaciones de maíz que se importa desde Estados Unidos hacia México ha aumentado. El maíz que se importa es principalmente de dos tipos: amarillo (destinado a satisfacer las demandas del sector pecuario e industrial), y blanco (destinado principalmente al consumo humano). Durante 2015, la cantidad acumulada de maíz blanco y amarillo importada desde Estados Unidos fue de 11.9 millones de toneladas (Morales, 2016; González, 2016; FIRA, 2015).

Con el objetivo de hacer monitoreo a una muestra del maíz importado desde Estados Unidos, se analizó empleando qPCR, una muestra de maíz amarillo colectado de una empresa acopiadora y distribuidora de granos.

La muestra de maíz obtenida (aprox. 2 kg) se dividió en 6 conjuntos de 100 granos cada uno. Posteriormente, se determinó la presencia de los marcadores transgénicos CaMV 35S y T-Nos.

Los marcadores transgénicos (promotor 35S y T-Nos) fueron detectados en los análisis de los 6 conjuntos de granos de maíz amarillo. Dichos conjuntos de granos se analizaron para determinar la presencia de los eventos transgénicos específicos de maíz monitoreados en este trabajo. Las muestras analizadas resultaron positivas para 5 de los 6 eventos transgénicos específicos de maíz analizados en este estudio (Bt11, Ga21, MON810, NK603 y TC1507); únicamente el evento transgénico Bt176 resultó negativo para todos los casos analizados (Tabla 24).

Tabla 24: Análisis de marcadores y eventos transgénicos de maíz en 6 conjuntos de 100 granos de maíz amarillo.

CLAVE	CaMV 35S	T-Nos	NK603	MON810	BT176	TC1507	Bt11	Ga21
MI1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
MI2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
MI3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
MI4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
MI5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
MI6	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo

Nota: la clave MI es abreviatura de Maíz Importado, y el número que le sigue a dicha clave se refiere al número de conjunto aleatorizado de semilla que le responde.

Posteriormente, se determinó la frecuencia de maíz GM presente en la muestra de maíz importado que se obtuvo, y para ello se extrajo el ADN a 100 granos de manera individual seleccionadas aleatoriamente, y se determinó la frecuencia de los marcadores 35S y T-Nos en las mismas.

De los 100 granos de maíz amarillo analizados, 99% de los mismos resultaron positivos para la presencia de uno o ambos marcadores transgénicos. En 96 de los granos analizados se detectaron tanto el CaMV 35S como el terminador Nos, mientras que únicamente en 3 granos se detectó la presencia del promotor CaMV 35S; el marcador T-Nos no se encontró de manera individual en ninguno de los granos. De manera relevante, Solamente un grano resultó exento para la presencia de los marcadores transgénicos monitoreados (Tabla 25).

Tabla 25: Distribución de los marcadores en las 100 semillas.

Marcador	Total
CaMV 35S + T-Nos	96
CaMV 35S	3
T-Nos	0
Ningún marcador	1

Después de analizar los conjuntos de 100 granos, y de que se detectó la presencia de 5 de los 6 eventos transgénicos específicos de maíz analizados en este estudio, se indagó la hipótesis sobre si todos los granos de maíz que componían a los conjuntos previamente analizados son de una misma variedad transgénica o por el contrario, existe una mezcla de variedades transgénicas de maíz en la muestra originalmente colectada.

Para investigarlo, se seleccionaron aleatoriamente 10 granos de maíz a los que previamente se monitoreó la presencia de los marcadores transgénicos 35S y T-Nos y que resultaron positivos a los mismos, y se procedió a identificar los eventos específicos de maíz analizados en este trabajo (Tabla 26).

En 9 de 10 granos analizados se detectó la presencia de los eventos transgénicos NK603 y Bt11, mientras que en 8 granos se detectó el evento transgénico TC1507. El 40% de los granos analizados fueron positivos para MON810 y el 20% al evento Ga21. Ninguno de los 10 granos analizados resultó positivo al evento Bt176; además de que hubo una muestra que resultó negativa para los 6 diferentes eventos transgénicos monitoreados.

Tabla 26: Detección de eventos transgénicos para 10 granos de maíz importado.

CLAVE	CaMV35S	T-nos	NK603	MON810	BT176	TC1507	Bt11	Ga21
6-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
13-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
27-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
39-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
44-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
53-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
64-MIMP	Positivo	Negativo						
75-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
88-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
92-MIMP	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo

Nota: el número de la clave representa el número de grano que se evaluó, mientras que MIMP es otra forma de señalar que se trata de maíz importado.

En la tabla 27 se presentan las combinaciones de eventos transgénicos que se detectaron en los granos analizados de manera individual. En tres granos se presentó la combinación de los eventos transgénicos NK603/MON810/TC1507/Bt11, mientras que para otros 3 granos se detectó la combinación NK603/TC1507/Bt11. También se detectó la combinación NK603/MON810/TC1507/Bt11/Ga21 en un grano de maíz, es decir, se detectaron 5 de los 6 eventos monitoreados en este estudio.

Tabla 27: Combinaciones de eventos transgénicos en las muestras de maíz importado.

Combinación de eventos transgénicos	No. de muestras
NK603/MON810/TC1507/Bt11/Ga21	1
NK603/TC1507/Bt11/Ga21	1
NK603/MON810/TC1507/Bt11	3
NK603/TC1507/Bt11	3
NK603/Bt11	1
Ninguno	1

Como podemos observar, con los resultados obtenidos queda claro que el maíz importado que llega a nuestro país es una fuente de presencia y dispersión de maíz GM en nuestro país, por lo que es necesario regular el flujo de este maíz tanto en el campo mexicano como en la cadena de abasto.

Secuencias recombinantes en muestras de harina de maíz empleada en la elaboración de tortillas comercializadas en tortillerías de la Ciudad de México.

La importancia de la tortilla para el pueblo mexicano no es menor, ya que su consumo *per cápita* es de 120 kg/año (Trejo, 2014), además de que es un alimento que provee el 38.8% de las proteínas, 45.2% de las calorías y 49.1% del calcio en la dieta diaria de la población en México; mientras que en las zonas rurales aporta aproximadamente el 70% del total de calorías y el 50% de las proteínas ingeridas diariamente por los mexicanos (Acevedo, 2000).

Con el fin de determinar la presencia de secuencias transgénicas en la harina utilizada para la elaboración de tortillas, se colectaron aproximadamente 10 gramos de harina de maíz de 162 tortillerías, es decir, aproximadamente 10 tortillerías por cada una de las 16 delegaciones de la Ciudad de México;

Se extrajo el ADN de las 162 muestras de harina de maíz colectadas y se monitoreó por medio de PCR tiempo real la presencia de los marcadores transgénicos CaMV 35S y T-Nos en cada una de ellas.

En 143 muestras (88% del total) se detectaron tanto el marcador CaMV 35S como el T-Nos, en 3 (1.8% del total) muestras se detectó positivamente únicamente el CaMV 35S, mientras que 12 muestras (7.4% del total) contenían solamente T-Nos. El 2.5% (n=4) del total de las muestras analizadas resultó negativo para la presencia de ambos marcadores transgénicos.

Tabla 28: Número de muestras positivas a los marcadores 35S y T-Nos para las 16 delegaciones de la Ciudad de México.

Delegación	Cantidad de muestras positivas a:		
	CaMV 35S + T-Nos	CaMV 35S	T-Nos
Álvaro Obregón	7	9	7
Azcapotzalco	10	10	10
Benito Juárez	10	10	10
Cuajimalpa	7	8	8
Cuauhtémoc	11	11	11
Coyoacán	10	10	10

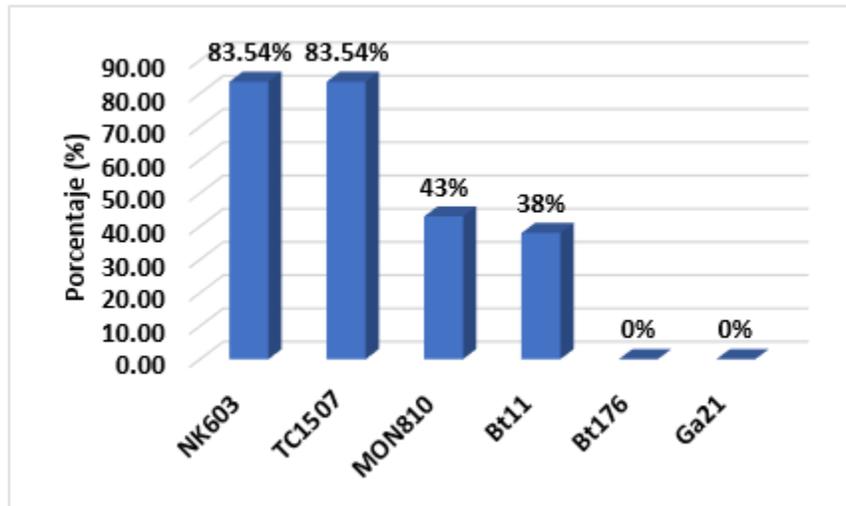
Gustavo A. Madero	10	10	10
Iztacalco	10	10	11
Iztapalapa	9	9	10
Magdalena Contreras	7	7	10
Miguel Hidalgo	9	9	10
Milpa Alta	10	10	10
Tláhuac	7	7	9
Tlalpan	8	8	9
Venustiano Carranza	9	9	10
Xochimilco	9	9	10
Total	143	146	155

Identificación de los eventos transgénicos específicos de maíz en las muestras de harina de maíz colectadas en tortillerías de la Ciudad de México.

Las muestras que previamente resultaron positivas para la presencia de los marcadores transgénicos 35S y T-Nos se analizaron para identificar alguno de los eventos transgénicos específicos de maíz: Bt11, Bt176, Ga21, MON810, NK603 y TC1507.

De las 158 muestras de harina de maíz en las que se detectó uno o ambos marcadores transgénicos, el 83.54% (n=132) de éstas resultó positivo a los eventos transgénicos NK603 y TC1507; mientras que los eventos MON810 y Bt11 se detectaron en 43% (n= 68) y 38% (n= 60) respectivamente. Los eventos transgénicos Ga21 y Bt176 fueron negativos para las 158 muestras que previamente habían resultado positivas a la presencia de los marcadores transgénicos 35S y T-Nos (Figura 13).

Figura 13: Resultado evento específico para las muestras de tortillerías de la CDMx.



En la tabla 29 se presentan los resultados de los análisis de identificación de cinco de los seis eventos positivos detectados en las harinas de maíz obtenidas en las diferentes delegaciones políticas de la Ciudad de México.

Tabla 29: Presencia de eventos transgénicos en muestras de harina de maíz de tortillerías.

Delegación	MON810	TC1507	Bt176	NK603	Ga21	Bt11
Álvaro Obregón	4	8	0	8	0	4
Azcapotzalco	3	10	0	10	0	1
Benito Juárez	8	10	0	10	0	1
Cuajimalpa	3	5	0	5	0	2
Cauhtémoc	4	11	0	11	0	6
Coyoacán	4	10	0	10	0	6
Gustavo A. Madero	6	10	0	10	0	1
Iztacalco	2	8	0	9	0	4
Iztapalapa	3	5	0	5	0	6
Magdalena Contreras	7	7	0	7	0	6
Miguel Hidalgo	6	9	0	8	0	6
Milpa Alta	4	10	0	10	0	3
Tláhuac	3	7	0	7	0	4
Tlalpan	2	5	0	6	0	4

Venustiano Carranza	4	8	0	8	0	4
Xochimilco	5	9	0	8	0	2
Total	68	132	0	132	0	60

En cuanto a las combinaciones de maíz transgénico presentes en las harinas de maíz analizadas, se encontró que la combinación NK603/TC1507/MON810 se detectó en 43 muestras(26%); la combinación Nk603/TC1507/MON810/Bt11 se presentó en 27 (16.67%) muestras; mientras que la combinación NK603/TC1507 se presentó en el 23.46% (n= 38) de las muestras; además se detectaron de manera individual los eventos transgénicos Bt11, TC1507 y NK603 en 4.94% (n=8), 1.23% (n=2) y 0.62% (n=1) del total de las muestras respectivamente.

En 20 muestras de harina de maíz que previamente resultaron positivas para los marcadores 35S y al terminador Nos no se logró ser identificada la presencia de ninguno de los eventos transgénicos específicos de maíz monitoreados en este trabajo, lo cual, indica que existen otras líneas transgénicas de maíz que se comercializan en México.

Tabla 30: Combinaciones de eventos transgénicos presentes en las muestras de harina de maíz colectada en tortillerías de las delegaciones políticas de la Ciudad de México.

Combinaciones	% (No. de muestras)
NK603/TC1507/MON810/Bt11	16.67 (27)
NK603/TC1507/MON810	26.54 (43)
NK603/TC1507/Bt11	13.58 (22)
NK603/TC1507	23.46 (38)
NK603/Bt11	0.62 (1)
Bt11	4.94 (8)
NK603	0.62 (1)
TC1507	1.23 (2)
Ninguna	12.35 (20)

Cuantificación de OGM's en muestras de harina de maíz procedente de tortillerías de la Ciudad de México.

El contenido de OGM de un alimento se expresa por ingrediente, calculando la cantidad relativa de material GM en el total de material que compone al alimento (Arleo, 2015); para este caso, se analizó el contenido de material GM derivado de maíz GM en las harinas de maíz colectado de distintas tortillerías en la Ciudad de México.

En total se analizaron 46 muestras de harina de tortillerías, tomadas aleatoriamente de las 158 muestras que previamente habían resultado positivas para la presencia de uno o ambos marcadores transgénicos. Los resultados obtenidos demostraron que 43 de las 46 muestras analizadas presentaron un valor superior al 1% de material GM. Muestras de harina de maíz obtenidas en delegaciones tales como Miguel Hidalgo, Benito Juárez, Magdalena Contreras y Tlalpan presentan un valor superior al 8% de material GM, e incluso en una muestra de harina de maíz colectada en la delegación política Miguel Hidalgo se detectó un porcentaje de 10.57% de material GM.

Tabla 31: Porcentaje de material GM en las muestras de tortillerías de la Ciudad de México.

Delegación	Valor promedio %GM
Álvaro Obregón(N=2)	1.67
Azcapotzalco(N=3)	4.63
Benito Juárez(N=2)	8.69
Cuajimalpa(N=3)	5.89
Cuauhtémoc(N=3)	6.67
Coyoacán(N=2)	7.01
Gustavo A. Madero(N=3)	5.68
Iztacalco(N=3)	3.97
Iztapalapa(N=3)	6.28
Magdalena Contreras(N=4)	8.53
Miguel Hidalgo(N=3)	10.57
Milpa Alta(N=3)	3.14

Tláhuac(N=3)	2.14
Tlalpan(N=2)	8.23
Venustiano Carranza(N=4)	2.75
Xochimilco(N=3)	2.88

Con todo lo anterior podemos observar que además de haber encontrado que prácticamente todas las muestras de harina de tortillería analizada resultaron estar hechas con maíz GM, también se comprobó que estas contienen altas cantidades de material transgénico, lo cual hace que el consumo de este tipo de alimento sea potencialmente dañino para la salud del consumidor; además de que claramente esto es un ataque directo al consumidor, ya que no se le advierte que está comiendo un alimento hecho a partir de maíz GM, impidiendo con ello que el consumidor tenga la suficiente información para saber si se encuentra dispuesto o no a comprar y/o consumir este tipo de alimento que es vital en la dieta del pueblo mexicano.

Maíz GM en productos comerciales: alimento para mascotas.

Previamente se presentaron los resultados de la identificación de variedades de maíz transgénico obtenidos de una empresa que distribuye maíz importado de los Estados Unidos, en donde los empleados de la compañía almacenadora de granos refirieron que un porcentaje significativo de los granos que comercializa está destinado a la elaboración comercial de forrajes o alimento comercial para animales. Con el objetivo de determinar la presencia de maíz transgénico en dicho tipo de productos, se colectaron 11 muestras de diferentes marcas comerciales de alimento para mascota (perro). Se monitoreó la presencia de los marcadores transgénicos CaMV 35S y T-Nos; para posteriormente analizar las muestras positivas a estos marcadores y mediante el análisis evento específico determinar el tipo de maíz transgénico presente en las muestras.

Todas las muestras de alimento para perro analizadas resultaron positivas para los marcadores CaMV 35S y T-Nos. Adicionalmente, se realizó el análisis de detección de los eventos transgénicos para las muestras que previamente resultaron positivas en la presencia de ambos marcadores transgénicos.

Todas las muestras de alimento para mascotas resultaron positivas para el evento NK603, 10 muestras (90.9%) resultaron positivas para el evento transgénico TC1507; 9 muestras (81.81%) resultaron positivas para el evento transgénico MON810; 8 (72.72%) fueron positivas para Bt11, y finalmente 7 (72.72%) muestras resultaron positivas a Ga21 (Tabla 32).

Tabla 32: Presencia de maíz transgénico en muestras de alimento para perro.

Tipo de muestra	P35S	T-Nos	MON810	TC1507	NK603	Bt11	Ga21
Alimento para perro 1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alimento para perro 2	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
Alimento para perro 3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alimento para perro 4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
Alimento para perro 5	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alimento para perro 6	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
Alimento para perro 7	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Alimento para perro 8	Positivo						
Alimento para perro 9	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
Alimento para perro 10	Positivo						
Alimento para perro 11	Positivo						

Tras el análisis evento específico para las 11 muestras de alimento para perro, se encontró que en 63.64% (n=7) de los casos, las muestras contenían los 5 eventos transgénicos monitoreados en el estudio (Tabla 33).

Tabla 33: Combinaciones de eventos transgénicos en alimento para mascota.

Combinación	Porcentaje (no. de muestras)
NK603/MON810/TC1507/Bt11/Ga21	63.64 (n=7)
NK603/MON810/TC1507/Bt11	9.09 (n=1)
NK603/MON810/TC1507	9.09 (n=1)
NK603/TC1507	9.09 (n=1)
NK603	9.09 (n=1)

Los resultados obtenidos en este muestreo puntual de alimentos comerciales para perros, confirman que variedades de maíz genéticamente modificado se emplean en la elaboración de estos productos.

Discusión.

El patrimonio biocultural es la manifestación de un sistema de reciprocidad y equilibrio entre los pueblos indígenas y el medio ambiente en el territorio en el cual coexisten, y se expresa en un alta biodiversidad desarrollada y adaptada localmente (por ejemplo, variedades vegetales cultivadas) y en un sistema de creencias y simbolismos ligada al uso de dichos recursos. Aunque en nuestro país existen distintos elementos que forman parte del patrimonio biocultural, encontramos que el maíz es en esencia, una de las expresiones del patrimonio biocultural más representativas de México, ya que el maíz entrelaza a un amplio número de sectores tales como el económico, social, religioso, gastronómico e incluso religioso a través de saberes y experiencias. Las culturas indígenas han logrado la domesticación, evolución, diversidad y conservación de 350 generaciones del maíz que conocemos en la actualidad, el cual, es la bandera invaluable de nuestro país (Boege et al., 2008). El maíz, como expresión del patrimonio biocultural está siendo afectado por la introducción de maíz modificado genéticamente, ya que su presencia es "una amenaza directa a la autonomía política, la identidad cultural, la seguridad personal y la biodiversidad" (CEC, 2004).

La presencia de maíz transgénico en México.

En esta tesis se analizaron un total de 437 muestras de maíz mediante la técnica de PCR en Tiempo Real con el fin de detectar los marcadores transgénicos: promotor 35S y terminador Nos, los cuales están presentes respectivamente en más del 84% y en el 70% de las líneas de maíz transgénico comercializadas (Alavez et al., 2013; Arleo, 2015); y cinco eventos transgénicos específicos de maíz liberados hace aproximadamente 15 años en Estados Unidos (ISAAA, 2015), y en México desde el 2002 (COFEPRIS, 2016). Las muestras de maíz analizadas en este trabajo provienen de distintos lugares del país (se colectaron muestras de 18 estados de la República). Las muestras fueron referidas como maíz criollo o híbrido de acuerdo a los datos que nos proporcionaron las personas (indígenas, campesinos, productores) que cedieron las muestras para el análisis de presencia de transgenes. Dicha clasificación se conservó en este trabajo, y de las 437 muestras de maíz

colectadas, el 71.85 (n= 314) por ciento de las mismas fueron clasificadas como variedades criollas y el 28.15% (n=123) restante corresponde a variedades híbridas.

En México el uso del maíz es altamente dinámico y frecuentemente los campesinos incorporan nuevas variedades, mientras que otras dejan de emplearse; este proceso incluye la incorporación de variedades mejoradas, que son sometidas al mismo manejo que las variedades criollas, lo que da lugar a variedades adaptadas localmente que los propios agricultores reconocen como “acriollados” (Bellon et al., 2009), y estas son apreciadas debido a que conservan y expresan los atributos tanto de las variedades nativas como de las mejoradas. Sin embargo, cabe señalar que el proceso de acriollamiento no se limita a las variedades mejoradas, sino que también se aplica a las poblaciones de maíz externas que son de interés para los agricultores, incluidas las variedades que son autóctonas de otras regiones o variedades híbridas. Por todo lo anterior es probable que algunas muestras señaladas como criollas por los productores en este estudio puedan tratarse de variedades híbridas o híbridas acriolladas.

Las muestras de maíz colectado no derivaron de un muestreo estratificado; sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio pueden ser interpretados como una actualización sobre la situación de la dispersión de transgenes en el maíz colectado en campo y de alguna manera, ser considerados como información preliminar en la selección de sitios prioritarios de muestreo, a partir de consideraciones adicionales como pueden ser: regiones de simpatria (cuando en una misma área geográfica pueden llegar a interactuar especies o poblaciones simpátricas), puntos de entrada y distribución de maíz importado, regiones de gran riqueza biocultural en las que, como se ha comentado conviven grupos indígenas o rurales y variedades nativas de maíz, entre otras varias.

Los resultados obtenidos en este estudio confirman lo que estudios previos han evidenciado: no es posible controlar el flujo de transgenes desde las variedades transgénicas hacia las variedades criollas (Espinosa y Turrent, 2013), lo cual es una

situación particularmente delicada en México que es centro de origen y diversidad del maíz.

En este estudio se encontraron secuencias de maíz transgénico en maíces procedentes de localidades o regiones de 12 de los 18 estados de la República Mexicana de donde se obtuvieron muestras. Estos estados forman parte de 5 de las 11 regiones biogeográficas de maíz planteadas por Perales y Golicher (2014), por lo que presentan una alta diversidad de maíz. Sin embargo, evidentemente, los resultados encontrados en esta tesis no pueden generalizarse a toda la región biogeográfica, aunque sería recomendable realizar investigaciones y monitoreos más detallados en las zonas en que puntualmente se encontraron maíces transgénicos. Para dar algunos ejemplos de la diversidad existente en los 12 estados en donde se registró la presencia de maíz GM, tenemos que Oaxaca es considerado uno de los más importantes reservorios genéticos de maíz en México y en el mundo. El estado concentra 35 razas de maíz, lo que representa el 54% de las reportadas para todo el país (Aragón-Cuevas *et al.*, 2003; Soleri *et al.*, 2006). Casi el 90% del territorio agrícola del estado es cultivado con variedades tradicionales lo que representa, al mismo tiempo, el 10% del territorio mexicano (Rendón-Aguilar *et al.*, 2015). Otro ejemplo de un estado rico en biodiversidad en maíz es Nayarit, en donde existe una alta diversidad genética de maíces nativos entre los que se destacan razas como el Tabloncillo, Tuxpeño, Elotero de Sinaloa, Elotes Occidentales y Vandeño en las regiones de Valles y Sierra del estado de Nayarit, distribuidos en un 75% en 6 de 8 municipios muestreados (INE-CONABIO-INIFAP, 2008c). Adicionalmente, en 6 de los 12 estados en los que se detectó la presencia de secuencias transgénicas en maíz, son estados enlistados dentro de las 10 principales entidades federativas en nuestro país que tuvieron una alta producción de maíz en el año 2015 de acuerdo a datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2016). En los 12 estados en donde se encontró maíz GM están ubicadas regiones en donde se localiza una alta presencia de grupos indígenas; por ejemplo, estados como Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Guerrero

y Michoacán concentran la mayor presencia de pueblos indígenas en nuestro país (Boege, 2008).

Como ya se ha comentado, México es centro de origen y diversificación genética del 15,4% de las principales especies que utiliza el sistema alimentario mundial, entre las que se encuentra el maíz además de que nuestro país resguarda en acervos el 60% de la información genética de dicha planta a nivel mundial; sin embargo, autores como Kato et al. (2009) que sugieren la existencia de regiones de “riesgo” o de mayor vulnerabilidad ante la introducción de maíz GM, debido a que estas regiones contienen una alta cantidad de diversidad en maíz y teocintle; además de clasificar estas zonas utilizando como criterio la cantidad de diversidad de maíz, es necesario incluir otros parámetros como la presencia de grupos indígenas, la producción de maíz en las regiones, entre otros aspectos, ya que estas zonas biogeográficas surgen a raíz de factores no solo ambientales, sino también de factores socioculturales. La presencia de maíz transgénico en el campo mexicano trae consigo una serie de preocupaciones que abarcan desde aspectos económicos, sociales, culturales, de biodiversidad hasta de seguridad alimentaria.

La dispersión de maíz GM puede producir, a mediano plazo, impactos inesperados en las poblaciones de las razas de maíz o sobre el agroecosistema en el que éstas se cultivan, al interactuar con las diferentes redes bióticas y tróficas en esos ecosistemas. La coexistencia entre maíz convencional y maíz GM no es una opción realista debido a que se conoce que el polen viable del maíz GM puede viajar varios kilómetros, y llegar a hibridar con maíz convencional; por lo que la idea de coexistencia entre estos dos tipos de cultivos resulta un argumento perverso.

Si llegara a aumentar la presencia de maíz GM en el campo mexicano (por ejemplo, debida a la autorización de la siembra a nivel comercial de maíz GM en México), la introgresión constante de transgenes de maíz podría repercutir en la acumulación irreversible en el genoma del maíz nativo, y con ello llegar a una afectación probablemente irremediable de una de las expresiones más ricas del patrimonio biocultural mexicano. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que existe una dispersión de secuencias transgénicas de maíz, en por lo menos en 12 estados

de la República Mexicana. Es necesario realizar estudios más detallados en dichas localidades, con la intención de determinar el nivel de dispersión o frecuencia de la presencia de secuencias recombinantes en variedades criollas o nativas de maíz.

Si la contaminación en los maíces criollos mediante secuencias transgénicas llega a niveles críticos, esto puede repercutir en tres aspectos dentro de la alimentación de la población mexicana: a) Si se llega a perder la diversidad de maíces nativos no se podrían elaborar los 600 preparados a base de maíz nativo de nuestra cocina pluricultural, con las características organolépticas (textura, sabor, olor y color) que demanda la población mexicana; b) El maíz está en la base de la alimentación de la población mexicana, en promedio, un mexicano recibe diariamente del maíz 1022 kcal y 26.3 gramos de proteína, lo que puede representar 50 % de la ingesta diaria de una persona adulta, si se toma como base una dieta de 2000 kcal; de presentarse un nivel de presencia de secuencias en el maíz de uso alimentario, potencialmente la salud del consumidor podría verse afectada; hay estudios experimentales que utilizan modelos animales que así lo sugieren: el consumo de OGM se ha asociado con diversas enfermedades como el cáncer, alergias, entre otras (ver Capítulo 4: Situación actual del cultivo de OGM's); y c) la nación perdería irreversiblemente la soberanía alimentaria sobre su principal alimento básico (Turrent, 2013). Es necesaria la realización de estudios de nutrición, epidemiología, inmunología para determinar la presencia de secuencias o proteínas recombinantes en la población que consume maíz en cantidades significativas, o para detectar la presencia de herbicidas, tales como el glifosato, potencialmente consumidos a través de los alimentos.

Además de los problemas de pérdida de biodiversidad y de afectaciones a la salud, el uso de maíz GM trae consigo problemas económicos y sociales, tales como: 1) se consolidarían los oligopolios de producción, venta y distribución de semillas y granos o incluso de derivados de estos, tales como la harina de maíz; en la actualidad, empresas transnacionales como Monsanto, Du Pont-Pioneer, Syngenta, Dow, Bayer, BASF, controlan el sistema alimentario mundial con la posesión del 63% de las semillas híbridas, y el 100% del mercado de semillas genéticamente

modificadas; además, controlan 90% de la producción de semillas de maíz comerciales e híbridas convencionales en México (Boege, 2013); 2) Implicaría gasto adicionales para el productor, quien tendría que cubrir los costos derivados de la adquisición de los paquetes tecnológicos (semillas híbridas –transgénicas-, fertilizantes, herbicidas e insecticidas químicos).

Una complicación que tendría la utilización y presencia de maíz GM a nuestro país, sería que todo agricultor que tuviera semillas de maíz contaminadas por secuencias transgénicas (como las encontradas en este estudio) estaría potencialmente obligado a pagar regalías y compensaciones a las compañías semilleras que han registrado las variedades transgénicas en los sistemas o instituciones de protección de propiedad intelectual. Lo cual significaría potencialmente despojar mediante la ley, a los 62 grupos étnicos de México de su principal alimento: el maíz.

El empleo de la tecnología de semillas transgénicas no reduce costos de semillas o insumos químicos, ni el uso de agroquímicos. Un extenso análisis realizado por el periódico 'The New York Times', indica que el empleo de variedades de cultivos genéticamente modificados en Estados Unidos y Canadá no han producido un aumento en los rendimientos de los cultivos ni ha conducido a una reducción general del uso de plaguicidas químicos (Hakim, 2016); de hecho, varios estudios como el realizado por la Universidad de Ohio con datos del USDA, reportan por ejemplo, que la tendencia en el rendimiento del maíz en 1940 a 1995 fue de 118 kg por hectárea, mientras que en el período de 1996 a 2011, en donde se empleó maíz GM es de 128 kg por hectárea, es decir, se tuvo un aumento de sólo 1% en la producción de maíz (Zalauf, 2011; González, 2014).

En cuanto a la reducción de agroquímicos, la subsecuente disminución de las plagas y el uso de herbicidas, se ha demostrado que las variedades de maíz transgénico de resistencia a insectos que supuestamente ayudaría a resolver el problema de las plagas, es una tecnología obsoleta, porque se ha constatado que no es efectivo contra los insectos debido a la generación de resistencias (Gassmann *et al.*, 2014), además de que las semillas tolerantes a herbicidas que traerían la solución al problema de malezas, han demostrado justo lo contrario, ya que en

Estados Unidos se han generado malezas resistentes a herbicidas (super malezas) y esto ha provocado que las aplicaciones de químicos como el glifosato vayan en aumento (Benbrook, 2012).

Si se incrementa la contaminación transgénica de maíz, o si se llegara a permitir la siembra de maíz GM en México a escala comercial, se estaría vulnerando el derecho al patrimonio común de los mexicanos que representa el maíz nativo, también se vulneraría el derecho a una alimentación sana e inocua, que actualmente provee el maíz nativo; se afectaría la identidad cultural de los pueblos indígenas, y se erosionará la mega diversidad de maíz en nuestro país.

Agricultura por contrato en Nayarit: ¿Qué siembran los productores?

La dependencia alimentaria de México se ha profundizado durante la última década, siendo los granos tales como el maíz, el segundo producto alimentario adquiridos del exterior (estando en primer lugar los productos cárnicos). Las importaciones de maíz desde Estados Unidos (producido con grandes subvenciones gubernamentales), han generado efectos diversos tales como pérdidas económicas y severos problemas de mercado para los productores nacionales. Ante ello, el gobierno implementa desde los años noventa programas de apoyo, entre los que figura la denominada agricultura por contrato, cuyo fin es dar seguridad, tanto a productores como a compradores, en el ámbito de la comercialización de granos (Echánove, 2009).

Se entiende como agricultura por contrato a la práctica mediante la cual las agroindustrias, exportadores, proveedores nacionales y empresas comercializadoras, contratan la producción primaria por medio de contratos formales o verbales (Díaz, 2010). Los acuerdos más comunes en la agricultura por contrato, son aquellos en los que productores ponen tierra y trabajo, mientras que las empresas aportan material de siembra, insumos químicos y/o asesoría técnica a crédito. En cuanto a los precios del producto, no siempre se establecen de antemano, pero lo que sí es inherente a la agricultura por contrato es el control directo o indirecto del proceso productivo (Echánove, 2008). En México, la agricultura por contrato prevalece en la producción de azúcar, tabaco, engorda de pollo y cerdos, cebada, maíz amarillo, ciertas variedades de trigo, frutas y hortalizas para exportación (Echánove, 2008). En la actualidad, la práctica de la agricultura por contrato se ha extendido a través de la República Mexicana, siendo promovida por la agroindustria y por instituciones gubernamentales como SAGARPA-ASERCA que llegan a entregar apoyos directamente al productor al término de la cosecha, que puede variar del 50 al 100% del costo de la cobertura en el mercado (Steffen y Tarrío, 2010).

Para conocer de manera puntual el tipo de semillas utilizadas en este tipo de agricultura, se analizó la situación de la semilla de maíz producida bajo el sistema

de agricultura por contrato; por lo que se muestrearon 80 predios en los municipios de Ahuacatlán, Amatlán de Cañas, Compostela, Santa María del Oro, San Pedro Lagunillas, y Santiago Ixcuintla en el estado de Nayarit. En esta región y bajo en este tipo de agricultura se siembra mayoritariamente maíz híbrido comercial. Se encontraron muestras positivas a secuencias transgénicas en 6 muestras de maíz híbrido, lo cual sugiere una contaminación en este tipo de maíz. Dado que variedades similares de maíz híbrido comercial se comercializan en distintos estados de la República, existe la posibilidad de que se esté sembrando maíz contaminado en otras regiones del país. Los datos del SNICS (2017) sobre variedades híbridas sembradas en nuestro país indican que en el ciclo primavera-verano del 2016 se sembraron 92 hectáreas del maíz híbrido DK-2027 en el estado de Sinaloa, siendo esta variedad, una de las tres en donde se encontró contaminación por secuencias transgénicas en maíz.

Nayarit es un estado rico en biodiversidad, ya que existe una alta diversidad genética de maíces nativos entre los que se destacan razas como el Tabloncillo, Tuxpeño, Elotero de Sinaloa, Elotes Occidentales y Vandefño en las regiones de Valles y Sierra del Estado de Nayarit distribuidos en un 75% en 6 de 8 municipios muestreados (INE-CONABIO-INIFAP., 2008c), por lo que la presencia de maíz GM en 2 de los 8 municipios analizados, representa un riesgo para la diversidad del maíz en la región.

La agricultura por contrato tiene como objetivo lograr el mercado seguro tanto para el productor, como el abasto de materia prima para el patrocinador, y es por ello que el gobierno está interesado en fomentar esta modalidad de trabajo (Alfaro, 2007), sin embargo, en México no existen leyes ni instancias que regulen el cumplimiento de los contratos, lo cual genera un ambiente en donde la falta de regulación y coordinación permite que se siembre maíz que resulta contener secuencias transgénicas y que este llegue a la cadena de abasto.

El maíz importado: una de las fuentes de introducción de secuencias transgénicas.

El maíz que importa México proviene principalmente de USA y es de dos tipos: amarillo y blanco. Las estadísticas del SIAP arrojaron que para el primer segmento del año 2016, un 88.8% de la importación de maíz fue amarillo, destinado a satisfacer las demandas del sector pecuario e industrial y el 11.2% de las importaciones de dicho cereal fue de maíz blanco (harinero) destinado principalmente al consumo humano, donde cabe destacar, que para el año 2015, México superó a Japón en dicho rubro, ya que el país oriental hasta ese entonces era el importador número uno de maíz proveniente de Estados Unidos. Lo anterior se ve reflejado en los 11.1 millones de toneladas que importó Japón, en contraste, con los 11.9 millones de toneladas importadas por México para el año 2015 (Morales, 2016; González, 2016; FIRA, 2015).

La región conocida como cinturón maicero (Corn Belt) en Estados Unidos y que está conformado por los estados de Iowa, Illinois, Indiana, Nebraska, Kansas, Minnesota, Missouri, Dakota, Ohio, Wisconsin, Michigan y Kentucky (A. Jones, Durand, 1954) es donde mayormente se produce maíz. En la producción de maíz estadounidense se emplean en su mayoría semillas genéticamente modificadas; de hecho, se estima que el 92% del maíz sembrado es GM (USDA, 2016); en donde los cultivos transgénicos de maíz resistentes a herbicidas e insectos han tenido una aceptación entre los productores norteamericanos en los últimos años. En este estudio se realizó el análisis de escrutinio de OGM's y evento específico mediante qPCR de muestras de maíz amarillo proveniente de Estados Unidos con para determinar la presencia de secuencias transgénicas.

Se analizaron 100 semillas de maíz importado, y se encontró que 99 de estas contienen secuencias transgénicas, y presentan desde 2 hasta 5 eventos transgénicos apilados.

Además de comprar maíz a Estados Unidos, desde el 2011 se eliminaron los pagos arancelarios por la importación de trigo, arroz, maíz blanco y amarillo, y se permitió la importación de maíz blanco de Sudáfrica exento del pago de impuesto a la

importación establecido para países que no tienen acuerdo comercial ni tratado de libre comercio en la Ley General de Importación y Exportación (2007) (Chauvet, 2014). En la página de agricultura de Sudáfrica se señala que en el 2013 se importaron de este país un poco más de 1 millón de toneladas de maíz Bt11, MON810, NK603, Ga21 y MON810 x NK603 (DAFF, 2013).

Nuestro país tiene una dependencia hacia la importación de maíz que en parte ha sido inducida tanto por cuestiones de economía global, como por el desabasto que sufren algunas empresas, hallando en la importación de maíz el modo de solucionar dicho problema. La dependencia al maíz importado surgió como consecuencia del TLCAN y se agudizó por la crisis alimentaria global a finales del 2006, lo que llevó a un aumento en los precios de la tortilla desde enero del 2007, de un 40 hasta un 67 por ciento (Kirsten Appendini, 2014), lo que propició la necesidad de adquirir maíz a un menor costo.

Esta dependencia al maíz importado ha generado afectaciones en varios sectores de la población a nivel transversal: los productores deben reducir el costo del grano producido para poder competir con el precio del maíz externo, creando así una reducción en la ganancia neta en el campo mexicano; pero simultáneamente, los productores se ven obligados a comprar maíz a un precio más alto, cuando el suministro de grano almacenado se ha agotado (Fitting, 2016). Además, algunas empresas podrían ocasionar indirectamente la erosión de variedades nativas, ya que estas no se apegan a su sistema de producción (Cadena, 2011) y, finalmente la industria alimentaria ha mostrado indiferencia sobre el origen de sus materias primas, ya que buscan la materia prima para sacar adelante su producción a un menor costo, sin considerar la calidad o la presencia de secuencias transgénicas en el maíz.

Este estudio puntualmente confirma la hipótesis de que el maíz importado de los Estados Unidos es un factor esencial para la presencia y potencial dispersión de maíz transgénico en nuestro país. Dado que en México no existen mecanismos de control y trazabilidad del maíz importado, potencialmente los granos importados

pueden usarse tanto para consumo, como para la siembra de maíz, lo cual constituye un riesgo para la salud de los consumidores y para la diversidad genética del maíz.

Estudios previos han indicado que el maíz importado es una fuente posible de dispersión de maíz GM en nuestro país, por ejemplo, el maíz importado por DICONSA, la cual es una institución federal con concepto de empresa estatal que se encarga del Programa de Abato Rural desde 1979 (Portilla, 2011); ha sido señalada como una importante fuente de contaminación al abastecer maíz importado de Estados Unidos, ya que en sacos de maíz procedentes de esta institución se detectó hasta un 30% de granos de OGM sin su debida etiquetación (Barrera-Bassols N. et al., 2009). En 2011, Carreón-Herrera y colaboradores realizaron una investigación para determinar si las semillas de maíz compradas en tiendas DICONSA podían adaptarse a las condiciones de la Mixteca Poblana. Los resultados arrojaron que las poblaciones de maíz que se derivaron del grano de maíz de las tiendas rurales DICONSA, constituyeron un conjunto que morfológica y agronómicamente fue distinto al formado por las poblaciones nativas; sin embargo, sus plantas llegaron a antesis y sus períodos de floración se traslaparon con los de las poblaciones nativas. Cabe señalar que existe riesgo real de flujo genético entre dos variedades cuando hay menos de cinco días de diferencia entre la floración masculina de una variedad y la floración femenina de la otra (Louette Dominique, 1995).

Otro punto a resaltar en esta tesis además de lo señalado en párrafos anteriores, es que tras realizar una búsqueda mediante la consulta en bases de datos como www.Cera-gmc.org o www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/ que compilan información sobre organismos genéticamente modificados, señalando los tipos de transgenes que contienen dichas variedades y en su caso, las combinaciones de los mismos y si se han liberado de manera comercial en algún país; se encontró que ninguna de las bases de datos consultadas reportó líneas transgénicas de maíz con las combinaciones obtenidas mediante el escrutinio evento específico a los granos de maíz importado analizados en este estudio. Este resultado implicaría

distintas hipótesis, tales como a) se han generado variedades transgénicas que contienen las combinaciones de eventos transgénicos encontradas en este estudio pero no han sido reportadas o registradas en las bases de datos de cultivos GM públicamente disponibles, y no obstante se están comercializando, y b) se han dado recombinación o flujo de transgenes entre las diferentes variedades transgénicas de maíz que no han sido controlados por las empresas que producen y distribuyen dicho maíz y dichas variedades se encuentran en el mercado. En el anexo 2 se presenta una tabla con las variedades de maíz comercialmente disponibles en el mundo.

El hecho de que se haya encontrado tan alta frecuencia de secuencias transgénicas en el maíz importado analizado (99 muestras positivas en 100 granos analizados), debería implicar una señal de alerta para las autoridades encargadas de la bioseguridad, inocuidad y seguridad agrícola y alimentaria, ya que del mismo modo, se evidenció la presencia de secuencias transgénicas en uno de los alimentos elaborados con maíz que mayormente consume la población mexicana: la tortilla.

El maíz transgénico en la cadena de abasto y su presencia en la industria de alimentos.

La tortilla de maíz es un elemento esencial en la dieta del mexicano. En este trabajo encontramos que el 97% de las tortillas analizadas, colectadas en aproximadamente 162 tortillerías de la Ciudad de México contienen las secuencias de los marcadores transgénicos 35S y el terminador Nos; además de que la mayoría de estas muestras resultaron positivo para las líneas NK603, MON810 y el evento TC1507, que han sido los eventos transgénicos específicos de maíz identificados en el mayor número de casos no solo en este apartado, sino que este patrón también se ha dado en los demás grupos de muestras analizadas en esta tesis.

A partir de modelos animales se han realizado estudios que reportaron daños a la salud, reacciones inmunológicas y alérgicas (Andreassen et al., 2014), daño renal (de Vendomois et al., 2009), hepático y cardiaco (Gab-Alla, 2012) por el consumo de maíz transgénico. En general, las líneas de maíz transgénicas que expresan la proteína Cry derivada de la bacteria *Bacillus thuringiensis* pueden ser causales de alergias y ser disruptoras del sistema inmune de mamíferos (Vázquez-Padrón et al., 2000). La presencia de dichas variedades transgénicas se encontró en 132 de las 162 muestras de harinas de maíz analizadas en este estudio. Adicionalmente, 43 de 46 de las muestras positivas para secuencias transgénicas presentaron un contenido superior al 1% de material GM, lo cual presenta un riesgo potencial a la salud pública, si se consideran las cantidades tan considerables de consumo de tortillas, y en general de alimentos elaborados con maíz en México. Entre las preguntas que surgen ante los resultados obtenidos en este monitoreo de tortillerías en la Ciudad de México es: dentro de la industria de la masa y la tortilla, ¿Qué empresas dotan los insumos para elaborar tortillas en la Ciudad de México?

La industria de la masa y la tortilla se encuentra dispersa por todo el país con 85,924 unidades económicas a nivel nacional, las cuales incluyen molinos y/o tortillerías (Centeno, 2015). El 53% de las unidades económicas de producción de masa o tortilla se encuentran en el Estado de México, Ciudad de México, Jalisco, Veracruz, Michoacán, Guanajuato y Puebla; en estos estados se genera el 51% de la

producción y el empleo (Espejel, 2012). La industria de la harina de maíz a nivel nacional está concentrada en seis empresas: Grupo industrial Maseca que participa con 71.2% del mercado, Minsa con 23.5%, Harimasa con 1.4%, Cargill de México con 1.3%, Molinos Anáhuac con 1.1% y Productos Manuel José con 0.2% (Centeno, 2015). El grupo Maseca y la empresa Minsa controlan el 90% de la producción de harina en México (Appendini y Rodríguez, 2012).

¿Cómo es que Maseca y Minsa son los principales productores de harina y tortillas de maíz?. Desde 1990 el gobierno federal y las empresas productoras de harina de maíz, Maseca y Miconsa, firmaron un acuerdo para sustituir las dotaciones de maíz por harina, en todas las tortillerías de la República Mexicana (Torres, 1994); además de que la urbanización del país y el crecimiento demográfico ha desplazado la tortilla de autoconsumo, en tanto que los niveles de producción de la harina de maíz nixtamalizada ha tenido una importancia creciente en la elaboración de tortillas, ya que entre 1991 y 1998, su participación se incrementó del 21 al 50% (Appendini Kirsten, 2010).

La industria de la tortilla en México se caracteriza por el cambio tecnológico de la planta industrial, el cual se dio por la sustitución de tecnología que producía masa de nixtamal fresca por la que elabora la masa hidratando la harina de maíz nixtamalizada (Espejel García M.V., 2012). Además de lo anterior, otro factor que explica el crecimiento de Maseca son las relaciones que esta empresa tiene con instituciones y gobiernos en nuestro país: Grupo Maseca (Gruma) a través de los años ha tenido una estrecha relación con diferentes instituciones del gobierno, por estar dentro del sector de alimentos y básicamente de la harina de maíz para la producción de tortillas, (como un alimento básico) ha estado inmerso y se ha beneficiado de muchos programas de desarrollo social enfocados a la alimentación de la población (Vargas, 2014). Esta relación entre Maseca y el gobierno también repercute en un mayor apoyo económico, por ejemplo, en 2014 nueve compañías acaparon 91% del programa de apoyo para la comercialización de maíz de la Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (ASERCA), las cuales recibieron más de 549 millones de pesos de un total de 610

millones repartidos entre 48 empresas. La empresa Gruma S.A. de C.V. poseedora de Maseca fue la principal beneficiaria por el gobierno deferal, que obtuvo alrededor de 217 millones de pesos y Minsa es la segunda acaparadora de apoyos, con alrededor de 119 millones de pesos (Ramírez, 2015).

En la zona metropolitana de la Ciudad de México, donde está arraigada la costumbre de consumir y de comprar la tortilla nixtamalizada, hasta 2010 se estimaba que 73% de la tortilla consumida era nixtamalizada (Appendini Kirsten, 2010). En la actualidad se calcula que un 34% de la tortilla producida en México tiene como insumo básico la harina nixtamalizada de maíz, aunque algunas cifras de MASECA hablan de una participación cercana al 50%, la cual posee aproximadamente el 70% del mercado con una producción de 2,075 millones de toneladas (Espejel, 2012).

¿Dónde obtienen su materia prima las empresas harineras?

A partir de 2008 Maseca y Minsa pueden importar directamente el grano que requieran para su actividad económica (Appendini y Rodríguez, 2012). Gruma no se ha involucrado directamente en la producción de grano, por lo que busca abastecerse interna o externamente de maíz dependiendo del precio del grano; cuando éste tendió a la alza en el mercado internacional, adoptó una estrategia de abasto interna conocida como “Club del maíz”, que consiste en contratos de compra bajo esquemas de agricultura por contrato en las principales zonas productoras del país. Sin embargo, estas formas de acopio no han resultado ser importantes ni sostenida (Appendini Kirsten, 2010). La participación de los campesinos se ha subordinado a los intereses de la empresa y se ha limitado sólo a quienes poseen tierras de cierto potencial productivo; a los productores pobres se les excluye. La relación de las empresas con los agricultores locales se ha limitado a la transmisión de sus necesidades en cuanto al tamaño y calidad del maíz que requieren (Rendón y Morales, 2008).

La industria de la harina también se ha afianzado en el mercado como compradora directa; operan principalmente con productores que están organizados, que entreguen en bodegas con facilidades logísticas y que tengan un control de calidad: Maseca compra alrededor de 1.7 millones de toneladas de maíz blanco, de los cuales, un millón son adquiridos en Sinaloa, directamente a productores/bodegueros, de acuerdo a su información, mientras que la importación de maíz blanco es mínima: unas 100,000 toneladas en años recientes (Appendini Kirsten, 2010). Minsa igual efectúa compras directas a productores; además existe la compra directa de industrias que utilizan grano para otros fines como el caso de Arancia-Corn Products International (Appendini Kirsten, 2010). A partir de los datos anteriores, resulta indiscutible afirmar que Maseca y Minsa dominan el mercado de la harina y las tortillas de maíz en nuestro país, por lo que, aunque las muestras de harina de maíz colectadas en las tortillerías de la Ciudad de México analizadas en este trabajo no fueron sistematizadas considerando la marca comercial, es altamente probable que el material analizado provenga de alguna de estas dos empresas.

El maíz GM en la industria del alimento para mascotas.

El último análisis en este trabajo consistió en evaluar la presencia de secuencias transgénicas de maíz en alimentos comerciales para perro. La industria de alimentos procesados para mascotas tiene un valor en México de mil 500 millones de dólares y son tres empresas las que dominan el mercado de la comida para perros y gatos, son: la estadounidense Mars (con marcas como Pedigree, Royal Canin y Whiskas), la suiza Nestlé (con Purina) y la francesa (con Ganador y Mínimo); entre las tres tienen el 90 por ciento del mercado nacional (Esquivel, 2015). Estas empresas se ubican en nuestro país en los estados de Guadalajara, Querétaro y México, en donde aportan 89.2% de la producción nacional de alimento para mascotas, que en 2015 ascendió a un millón 120,000 toneladas con un valor de 59,400 millones de pesos (Romo, 2016); sin embargo, tampoco en este tipo de producto somos autosuficientes, ya que en 2015 se importaron 57,264 toneladas de alimento para perros y gatos (Romo, 2016).

Dado que no hay estudios sobre la presencia de maíz transgénico en alimentos para mascotas, se optó por analizar 11 marcas de alimentos para perro que se encuentran disponibles en nuestro país; obteniendo que todas las muestras contienen maíz GM, y que 7 de las 11 muestras analizadas fueron positivas a 5 de los 6 eventos transgénicos de maíz evaluados en este estudio.

Los resultados anteriores, reflejan que el 90% de los hogares mexicanos que compran alimento para mascotas están alimentando a aproximadamente 25 millones de mascotas con maíz transgénico (Ramírez, 2016).

Como se ha visto en este trabajo, la ingesta de maíz GM trae consigo afectaciones en la salud del consumidor, por lo que las mascotas no quedarían exentas de sufrir patologías por la ingesta frecuente de este tipo de alimento.

Conclusiones.

En el presente trabajo se confirma la presencia de secuencias transgénicas de maíz en variedades de maíz criollo e híbrido que se siembran en el campo mexicano; además de la presencia de maíz GM en la elaboración de alimentos comerciales hechos en base a este (tortillas y alimento para mascota), finalmente se confirmó la hipótesis de que el maíz importado a nuestro país desde los Estados Unidos en maíz GM.

En predios de Nayarit en donde se practica la agricultura por contrato se está sembrando maíz híbrido contaminado con el desconocimiento del productor; por lo que sería necesario profundizar en este tema y realizar análisis de presencia de transgénicos en otras variedades de maíz híbrido comercial; ya que los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el maíz híbrido distribuido comercialmente podría ser una fuente de dispersión de secuencias transgénicas.

Mediante el análisis realizado a una empresa distribuidora de maíz importado desde los Estados Unidos, se llegó a detectar que de cada 100 granos del maíz que comercializan, 99 de estos son transgénicos; y que adicionalmente presentan combinaciones de eventos transgénicos que no se encuentran registrados en ninguna base de datos sobre OGM.

La industria de la masa y la tortilla se encuentra dispersa por todo el país con 85,924 unidades económicas a nivel nacional, las cuales incluyen molinos y/o tortillerías, en este trabajo se muestrearon solamente 162 unidades pertenecientes a las 16 delegaciones que componen la Ciudad de México, y se encontró que 96% contenían secuencias transgénicas de maíz, además de que se identificó la línea NK603 que presenta una alta toxicidad. Lo que restaría afectar sería ampliar el número de muestras colectadas con el fin de evaluar con más exactitud la situación del maíz GM en la elaboración de tortillas.

Este trabajo actualizó la información disponible sobre la presencia de maíz GM en México, y los resultados obtenidos evidencian que no existe una regulación rígida sobre el destino del maíz importado, el cual podría ser una de las causas principales

de dispersión secuencias GM. Adicionalmente, los resultados aquí presentados señalan la elevada presencia de secuencias recombinantes en tortillas comercializadas en la ciudad de México. La presencia de maíz GM tanto en el campo mexicano como en la cadena de abasto es un ataque directo al patrimonio biocultural y a la soberanía alimentaria del pueblo mexicano; ya que el maíz en México es más que un recurso natural, el maíz es parte del pueblo mexicano, es fundamental en la cultura, en la economía y en la dieta.

Perspectivas: este trabajo da un panorama general sobre la situación del maíz GM en nuestro país, sin embargo haría falta realizar muestreos más rigurosos con el fin de presentar el panorama completo, pero para dicha labor es necesario que varias instituciones o dependencias se unan para poder cumplir el objetivo, el cual va más allá de solo declarar en donde hay presencia o ausencia de maíz transgénico, ya que también es necesario efectuar campañas para concientizar a la población y así defender al maíz que es parte del patrimonio biocultural; por lo que es necesario efectuar las siguientes actividades a mediano y largo plazo:

- a) Ampliar el muestreo de maíz híbrido y criollo en más localidades de los estados muestreados e incluir otras entidades federativas.
- b) Determinar zonas prioritarias para el muestreo, a partir de factores tales como: información previa sobre existencia de alta biodiversidad de maíz, zonas en donde aún se realice agricultura con maíces nativos, en zonas de simpatría, en zonas en donde previamente se haya reportado la presencia de secuencias transgénicas de maíz.
- c) Diseñar estrategias de muestreo que permitan determinar frecuencias de secuencias transgénicas en maíz híbrido y criollo.
- d) Ampliar el muestreo en variedades de maíz híbrido.
- e) En caso de encontrar presencia de secuencias transgénicas de maíz, implementar estrategias de “descontaminación” mediante la interacción directa con productores, campesinos y comunidades agrícolas.
- f) Ampliar el monitoreo de secuencias transgénicas de maíz a otros productos elaborados en base a este.

Bibliografía consultada.

Acevedo Godínez M. G. (2000). Uso del cerdo como modelo biológico para evaluar la calidad de la tortilla por dos procesos de nixtamalización y la fortificación con vitaminas y pasta de soya. Tesis para obtener el grado de: Maestra en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima. Colima Col.

Alavez A. et al. (2013). Flujo génico, En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un análisis integral sobre el caso de México*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 3.

Alfaro Aguilar J.A. (2007). La agricultura por contrato en Coahuila, caso maíz amarillo. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de: Lic. En Economía Agrícola y Agronegocios. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". División de Ciencias Socioeconómicas. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Págs: 40-55.

Álvarez-Buylla R. E., (2004). Evaluación de la presencia de transgenes en maíces criollos de Oaxaca y Puebla. UNAM. Instituto de Ecología. Departamento de Ecología Evolutiva, Proyecto CONABIO V027. 25p.

Álvarez-Buylla, et al. (2013). Las líneas de maíz transgénico disponibles para la agricultura: promesas, hechos y potencial en el contexto de México, En: E. Álvarez, A. Piñeyro. *El maíz en peligro ante los transgénicos*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 2.

Álvarez-Buylla E.R. et al. (2013). Incertidumbre, riesgos y peligros de la liberación de maíz transgénico en México, En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un análisis integral sobre el caso de México*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 4.

Álvarez Gordillo G. del C., et al. (2016). Vulnerabilidad y patrimonio biocultural en Tacotalpa, Tabasco. *Política y Cultura, primavera, núm. 45*. 211-239

Appendini K, Rodríguez Gómez G. 2012. La paradoja de la calidad. Alimentos mexicanos en América del Norte. El Colegio de México. Primera Edición. ISBN: 978-607-462-339-0. PP. 96-99.

Arleo M, 2015. Detección y Cuantificación de Organismos Genéticamente Modificados en cultivos de maíz y alimentos derivados, mediante análisis molecular. Tesis para optar por el Título de Magíster en Biotecnología. Programa de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Uruguay. Montevideo.

Baltazar, B. M., Espinoza, L. C., Banda, A. E., Horak, M. J., & Schapaugh, A. W. (2015). Pollen-Mediated Gene Flow in Maize: Implications for Isolation Requirements and Coexistence in Mexico, the Center of Origin of maize. *PLoS One*, *10*. Retrieved from <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0131549>

Barrera-Bassols N., et al. (2009). Saberes locales y defensa de la agrobiodiversidad: maíces nativos vs. maíces transgénicos en México. http://www.fuhem.es/media/ecosocial/File/revistapapeles/107/Saberes_locales_defensa_agrodiversidad.pdf.

Barros, C. (2008). Maíz, alimentación y cultura. *Ciencias*. Octubre 2008-marzo 2009. 56-59.

Bellon M.R., Berthaud J., (2006). Traditional Mexican agricultural systems and the potential impacts of transgenic varieties on maize diversity. *Agriculture and Human Values* 23: 3–14

Bellon, M.R., et al. 2009. Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas, en *Capital natural de México*, vol. II: *Estado de conservación y tendencias de cambio*. Conabio, México. 355-382.

Benbrook G.M, (2016). Trend in glyphosate herbicide use in the United State and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28, 1-42

Benbrook G.M, (2012). Impacts of genetically engineered crops on pesticides use in the US.-the sixteen years. *Environmental Sciences Europe*, 24, 24

Boege Schmidt E. et al. (2008). El patrimonio biocultural de los pueblos indígenas de México. Instituto Nacional de Antropología e Historia: Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas.

Bonfil Batalla G., et al. 2010. El maíz no es una cosa es un centro de origen. Red de defensa del maíz. Retrieved from: <http://redendefensadelmaiz.net/>

Breña Ochoa A. (2013). Estructura genética espacial asociada a la selección en razas de maíz en México. Tesis para optar por el grado de: Maestra en Ciencias Biológicas. Posgrado en Ciencias Biológicas, Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F. Pp 3-6.

Bucchini y Goldman, (2002). Starlink corn: a risk analysis. *Environ Health Perspect*, 110, 5-13

Buenrostro E., (2012). Producción de tortilla, 90% es contaminada. *El economista*. Retrieved from: <http://eleconomista.com.mx/estados/2012/10/10/produccion-tortilla-90-contaminada>

Cabrales Arellano, P. C. (2012). *Expresión de una proteína Cry de Bacillus thuringiensis en la levadura de Yarrowia lipolytica*. Tesis para obtener el título de: Maestro en Ciencias en Biotecnología Genética. Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politecnico Nacional. Reynosa, Tamp. 3-16.

Cárcamo M. I. et al. (2011). *Biodiversidad, Erosión y Contaminación Genética del Maíz Nativo en América Latina*. (M. I. Manzur, Ed.) (Primera ed).

Carreón-Herrera et al. (2011). Gene flow between maize commercialized by diconsa and native populations at the mixteca of Puebla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 939–953.

Carreón Herrera N. I., (2011). Detección de transgenes en variedades nativas de maíz en dos regiones del Estado de Puebla. Requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícola, Campus Puebla. Puebla, Puebla. 1-69.

CCA. (2004). *Maíz y biodiversidad: efectos del maíz transgénico en México*.

CEC (North America Commission on Environmental Cooperation). (2004). *Maize and Biodiversity: The Effects of Transgenic maize in Mexico*. Retrieved from: <http://www.cec.org/maize/>.

Centeno Juaréz M. (2015). Impulso a las actividades de la red maíz en México (I). E Retrieved from: <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2015/07/22/impulso-las-actividades-red-maiz-mexico-i> .

CERA. (2015). GM Crop Database, Center for Environmental Risk Assessment. Retrieved from <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>

Chaparro Giraldo A. (2000). Hybridization between transgenic and wild plants: environmental risk. *Revista Colombiana de Biotecnología.*, *III*, 36–43.

Chaparro Giraldo. A. (2011). Gm Crops: Between Biological Risk and Environmental and Economics Benefits. *Acta Biológica. Colombiana.*, *16*, 231–251.

Chávez Martínez L. N. (2013). Análisis de la normatividad en bioseguridad para la protección de la diversidad del maíz en México. Tesina para obtener el título de: Especialista en gestión e impacto ambiental. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana. Tuxpan, Veracruz. 10.

Committee on Environmental Impacts Associated with Commercialization of Transgenic Plants, (2002). Environmental effect of transgenic plants: The Scope and Adequacy of Regulation. National Academies Press.

CONABIO. (2012). Documento base sobre solicitudes de liberación comercial de maíz genéticamente modificado en México. (En línea), México.

CONABIO-INIFAP. (2008). Proyecto FZ002. Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Informe final de actividades 2007-2008.

CONABIO-INIFAP. 2005. Informe final del Proyecto CS002 Actualización de la información sobre los maíces criollos de Oaxaca. Oaxaca, Oaxaca.

Costa J (2004) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. *Enferm. Infec. Microbiol. Clin.* *22*: 299-305.

Costa S. D., Barbercheck M. E. y Kennedy G. G. (2000). Sublethal acute and chronic exposure of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to the delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, *93*. 680-689.

Dale P.J., et al., (2002). Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nature biotechnology*, 20, 567-574.

De Schrijver A., et al., (2006). Risk assessment of GM stacked events obtained from crosses between GM events. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 101-109

De Vendomois et al., (2009). A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Internayional Journal of Biological Science*, 5, 706-726

Díaz Jerónimo P. (2010). La agricultura por contrato. Retrieved from: <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2010/06/03/agricultura-contrato>.

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. (1990), Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12. 13-15.

Dyer, G., A., et.al. (2009). Dispersal of Transgenes through Maize Seed Systems in Mexico. *PlosOne*. Vol. 4: e5734doi:10.1371/journal.pone.0005734

Echánove H. F. 2009. Política Agrícola en México: El esquema de agricultura por contrato en maíz. *Anales de Geografía* 29.

Echánove H. F. (2008). Globalización, Agroindustrias y agricultura por contrato en México. *Geographicalia* 54, 45-60.

Eckart Boege. (2013)., Coexistencia imposible entre los maíces nativos mexicanos y los genéticamente modificados, En: Turrent Fernández A., et. al. Una coexistencia imposible: Maíces nativos y Maíces transgénicos. La Jornada Veracruz. Suplemento científico de la Jornada Veracruz. Domingo 6 de marzo 2016. Año 6, no. 60

Engels, J., et al., (2005). Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plants genetic resources conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution* (53), 1675-1688.

Espejel García M. V. (2012). Caracterización del consumo de tortilla en el Estado de México. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de: Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Postgrado de Socioeconomía, Estadística e Informática-economía. Campus Montecillo. Texcoco, Edo. De México. 1-49.

Espinosa Calderon A. et al. (2010). Maíz transgénico en el centro de origen: Riesgos para México y el mundo. *Agricultura sostenible* VOL. 7. 1-17.

Espinosa-Calderon A. y Turrent Fernández A. (2013)., Mejoramiento genético autóctono versus semillas de laboratorio y los derechos de propiedad intelectual, En: Turrent Fernández A., et. al. Una coexistencia imposible: Maíces nativos y Maíces transgénicos. La Jornada Veracruz. Suplemento científico de la Jornada Veracruz. Domingo 6 de marzo 2016. Año 6, no. 60

Esquivel E. 2015. Mascotas: Negocio millonario y de problemas de salud. Retrieved from: <http://www.sdnoticias.com/nacional/2015/03/22/mascotasnegociomillonarioydeproblemasdesalud>

Fagan J. (2007). Monitoring GMOs released into the environment and the food production system. Pp. 521-553. En: Traavik, T. y LL.Chings (Eds). *Biosafety First-Holistics Approaches to Risk and Uncertainty in Genetic and Genetically Modified Organisms*. Norway. 612pp.

Federici B. A., Park H. y Bideshi D.K. (2010). Overview of the Basic Biology of *Bacillus thuringiensis* with Emphasis on Genetic Engineering of Bacterial Larvicides for Mosquito Control. *The Open Toxinology Journal* 1.83-100.

Fernandez A.T., Hernandez J.A.S., Andrade H.M., Calderon A.E., Fernandez, A. T., Hernandez, J. A. S., Calderon, A. E. (2009). Commercial Liberation of Transgenic Maize and Transgene Accumulation in Mexican Maize Landraces. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32, 257–263.

Fernández A, et al. (2010). ¿Is the current transgenic maize technology adavantageous to Mexico?. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.1 631-646.

Fernández, A. T., Wise, T. A., & Tufts, U. De. (2012). Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz de México. *Mexican Rural Development Research Reports No. 24*.

Fernández Campos M. (2010). Análisis de Transgénesis mediante PCR de 20 Polentas que se encuentran a la venta en el Mercado Uruguayo. Tesis para obtener el título de: Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad de la República. Uruguay. 16-19

Fernández Perrino F. J. (2006). Transgenic plants: Myths and realities from a technical point of view. *Rev. Fitotec. Mex.*, 29, 95–102.

Fernández Sacristán L. (2014). “*Uso de marcadores genéticos para determinación del grado de introducción del maíz transgénico comercial en Asturias.*” Trabajo final de Máster. Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria. Universidad de Oviedo. Oviedo, España. Págs:1-25.

Fernández Suárez R. et al. (2013). Importance of mexican maize landraces in the national diet. An essential review. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 Supl. 3-A: Págs: 275 – 283.

Finamore A., et al., (2008). Intestinal and peripheral immune response to MON810 maize ingestion in weaning ad old mice. *J. Agric. Food Chem*, 56, 11533-11539.

FIRA (2015). Panorama agroalimentario-Maíz 2015. Dirección de Investigaciones y Evaluación Económica y Sectorial. Gobierno de México. Retrieved from: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61952/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2015.pdf

Fitting E. (2016). Importing corn, exporting labor: The neoliberal corn regime, GMOs, and the erosion of Mexican biodiversity. *Agriculture and Human Values* (2006) 23: 15–26

Gab-Alla A.A. (2012). Morphological and Biochemical in Male Rats Fed on Genetically Modified Corn. *Journal of American Science*, 8, 1117-1123.

García M. A., Altieri M. A. 2005. *Transgenic Crops: Implications for Biodiversity and Sustainable Agriculture* Bulletin of Science, Technology & Society, Vol. 25, No. 4, August 2005, 335-353

Gassmann A.J., et al, (2011). Field-evolved resistance by western corn rootworm to multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 5141-5146.

González E. (2014). Biotecnología transgénica agrícola y potenciales afectaciones a la salud humana. México ante el maíz transgénico. *Revista PACAL MedLab* 2014; Año 6: 23-39

González Merino A., et al (2014). El maíz en Estados Unidos y en México. Hegemonía en la producción de un cultivo. *Argumentos. UAM-Xochimilco, Año 27*, 215–237.

GRAIN. (2015). Las leyes de semillas que criminalizan campesinas y campesinos: resistencias y luchas

Gray, A., Holzhauser, T., Jordan, M., Keese, P., Kok, E., Macdonald, P., Kevin, J. W. (2015). Genetic basis and detection of unintended effects in genetically modified crop plants. *Transgenic Res*, 24, 587–603. <http://doi.org/10.1007/s11248-015-9867-7>

Griffiths, K., Partis, L., Croan, D., Wang, N., & Emslie, K. R. (2002). Review of technologies for detecting genetically modified materials in commodities and food. *Australian Government Department of Agriculture Fisheries & Forestry*.

Guyton et al., (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16, 490-491.

Hakim D. (2016). Doubts About the Promised Bounty Genetically Modified Crops. *The New York Times*. Retrieved from:
https://www.nytimes.com/2016/10/30/business/gmopromisefallsshort.html?_r=0

Hernández, M., Rodríguez-Lázaro, D., Esteve, T., Prat, S., & Pla, M. (2003). Development of melting temperature-based SYBR Green I polymerase chain reaction methods for multiplex genetically modified organism detection. *Analytical Biochemistry*, 323, 164-170.

Hofmann, F. *et al.* (2014). Maize pollen deposition in relation to distance from the nearest pollen source under common cultivation-results of 10 years of monitoring (2001 to 2010). *Environ Sci Eur* 26:24. Retrieved from
<http://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-014-0024-3>

Ho Mae-Wan, et al., (1999). Cauliflower Mosaic Viral Promoter – A Recipe for Disaster? *Microbial Ecology in Health and Disease*, 11, 194-197

Holden M.J., et al. (2010). The use of 35S and Tnos expression elements in the measurement of genetically engineered plants materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 2175-2187

Ibrahim, M. A., Griko, N., Junker, M., & Bulla, L. A. (2010). A genomics and proteomics perspective, (February), 31–50.

INE-CONABIO-SAGARPA. (2008). Agrobiodiversidad en México: el caso del Maíz. Retrieved from <http://www.inecc.gob.mx/descargas/dgipea/agrodiversidad.pdf>

INE-CONABIO-SAGARPA. (2008). Documento de trabajo para el taller: Agrobiodiversidad en México: el caso del maíz. Retrieved from: <http://www.inecc.gob.mx/descargas/dgipea/agrodiversidad.pdf> Visto el 14-01-16.

INE-CONABIO-INIFAP. (2008b). INFORME FINAL DE ACTIVIDADES 2007-2008: Proyecto FZ002. Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Culiacán, Sinaloa. 60-61

INE-CONABIO-INIFAP. (2008c). INFORME FINAL DE ACTIVIDADES 2007-2008: Proyecto FZ002: Conocimiento de la diversidad y distribución actual de maíz nativo y sus parientes silvestres de México. COMPONENTE 1: DIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN ACTUAL DE LOS MAÍCES NATIVOS EN NAYARIT. Tepic, Nayarit. 28-31

INE- CONABIO- INIFAP. (2009). Informe final: “CONOCIMIENTO DE LA DIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN ACTUAL DEL MAÍZ NATIVO Y SUS PARIENTES SILVESTRES EN MÉXICO, SEGUNDA ETAPA 2008-2009. De los estados de: Guanajuato, Querétaro y Michoacán. P 5-7

INIFAP-CONABIO. (2010). INFORME FINAL DE ACTIVIDADES 2008-2010: Proyecto FZ016: Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Segunda Etapa 2008-2009. Región Norte Centro, Estado de Aguascalientes. Pabellón de Arteaga, Aguascalientes.12.

INEGI (2010). Población rural y urbana. Retrieved from http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/rur_urb.aspx?tema=P

ISAAA. (2016). Retrieved from <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/>

ISAAA, (2015d). GM Approval database. Retrieved from <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/default.asp>

ISAAA, (2016). ISAAA Brief 51-2015: Executive Summary. Retrieved from <http://isaaa.org/resources/publications/briefs/51/executivesummary/default.asp>

ISAAA. (2014b). Pocket K No. 10: Herbicide Tolerance Technology: Glyphosate and Glufosinate. Retrieved from: <https://isaaa.org/resources/publications/pocketk/10/default.asp>
Visto por última vez: 8-01-16

ISAAA. (2015). Pocket K No. 16: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2014. Retrieved from: <http://www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/16/> . Visto por última vez: 8-01-16

ISO 21571, (2005). Foodstuffs- Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Quantitative nucleic acid based methods

Ita A. (2012). La defensa internacional del maíz contra la contaminación transgénica en su centro de origen. *El Cotidiano.*, 57–66.

Joint Research Center (JRC). 2010. Análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos: Extracción y purificación de ADN. Comisión Europea y Organización Mundial de la salud, oficina regional de Europa. 8

Kato-Yamakake T. A. (2002). Variedades transgénicas y el maíz nativo en México. *Agricultura, Sociedad Y Desarrollo. Vol. 1. No. 2., 1*, 101–109.

Kato. et. al. (2013). Origen y Diversidad del maíz, En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un análisis integral sobre el caso de México*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 1.

Kato, T.A., C. Mapes, L.M. Mera, J.A. Serratos, R.A. Bye. (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 43.

Key S., Ma, J. K.C & Drake P.M (2008). Genetically modified plants and human health. *Jrsm* 101(6), 290-298. <http://doi.org/10.1258/jrsm.2008.070372>

Kohli A., et al., (1999). Molecular characterization of transforming plasmid rearrangements in transgenic rice reveals a recombination hotspot in the CaMV 35S promoter and confirms the predominance of microhomology mediated recombination. *Plant Journal*. 17. 591-601

Landavazo Gamboa D. A. et al. (2006). Molecular and biological characterization of recombinant genes in maize landraces from Oaxaca. *Agricultura Técnica En México*, 32, 267–279.

Largo Hernández N. E. (2011). *Alcance de los alimentos transgénicos en la salud del hombre en México*. En modalidad de “Seminario de Titulación colectiva” para obtener el título de: Licenciada en Derecho. Facultad de Estudios Superiores Aragón. UNAM. Nezahualcóyotl, Edo. De México. 50-53.

Loaeza Lara P. D. et al. (2004). MECANISMOS DE REPLICACIÓN DE LOS PLÁSMIDOS BACTERIANOS, 23, 71–78.

López Andreo, M. (2013). Identificación y cuantificación de especies en productos alimenticios mediante PCR en tiempo real. *Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid*.

Lopez-Martínez et al., (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42, 1187-1192

López-pazos, S. A., & Cerón, J. (2010). Proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* y su interacción con coleópteros, 183–194.

López-Revilla R, et. al, (2013). Riesgos potenciales no previstos de los alimentos transgénicos. En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un*

análisis integral sobre el caso de México. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 5.

Malatesta, M. (2009). Animal feeding trials for assessing GMO safety: answers and questions. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4, 1–13. <http://doi.org/10.1079/PAVSNNR20094068>.

Martínez Esponda F. X. 2014. Defensa del patrimonio biocultural de México: el caso del maíz nativo de la región totonaca de Veracruz. Tesis para obtener el grado de maestro en ecología tropical. Universidad Veracruzana, centro de investigaciones tropicales. Xalapa, Veracruz.

Marc J., et al., (2003). Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation. *Biology of the cell* 96 (2004) 245-249.

Méndez-Albores *et al.*, (2004). Aflatoxins fate during the nixtamalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. *J. Stored Prod. Res.* 40:87-94.

Mesnager et al., (2015). Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 133-153.

Mercer K. L., & Wainwright J. D. (2008). Gene flow transgenic maize to landraces in Mexico: An analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123(1-3), 109-115, <http://doi.org/10.1016/j.agee.2007.05.007>.

Monsanto (2008). Guía de usos de las tecnologías. Disponible en <http://www.monsanto.com/global/ar/productos/documents/guia-tecnologica-final.pdf>

Morales, M. (2016). México, principal destino de envíos de maíz de EU. Nota de prensa: El economista. Retrieved from: <http://eleconomista.com.mx/industrias/2016/09/08/mexico-principal-destino-envios-maiz-eu>

Moreno Sáenz L.I. (2014). Dependencia de México a las importaciones de maíz en la era del TLCAN. Tesis para obtener el grado de: Maestra en economía aplicada. El Colegio de la Frontera Norte. Tijuana, B.C., México.

Norma Oficial Mexicana NM-187-SSA1/SCFI-2002, productos y servicios. masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. En línea. Dirección electrónica: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/187ssa1scfi02.html>

Onofre Nodari R. (2009). Quality of risk analysis and insecurity of transgenic to environmental and human health. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.*, 26, 74–82.

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.

Peña Betancourt S.D., (2013). Presence of transgenic proteins and their effect on the content of tannins and aflatoxins in commercial corn. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.4 Núm.3 01 de abril - 15 de Mayo. 485-490.

Piñeyro-Nelson, A. (2007). Restricciones analíticas de las técnicas de biomonitorio de organismos genéticamente modificados de uso agrícola: Estudio de caso de muestras de maíz procedentes de la Sierra Juárez de Oaxaca. Facultad de Ciencias, UNAM.

Peralta L. y Marielle C. (2013). La protección oficial del maíz frente a los transgénicos: una simulación de estado, En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un análisis integral sobre el caso de México*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 15.

Perales H, Golicher D (2014). Mapping the Diversity of Maize Races in Mexico. *PLoS ONE* 9(12): e114657. doi:10.1371/journal.pone.0114657

Pérez Palacios A. (2015). *Uso y manejo de plaguicidas en cultivos de soya (Glycine max) convencional y genéticamente modificada (evento MON-04032-6) en zonas agrícolas de la Península de Yucatán, México*. Tesis para obtener el título de: Bióloga. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.

Piñeyro-Nelson A, van Heerwaarden J, Perales HR, Serratos- Hernández JA, Rangel A, et al. (2009). Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Mol Ecol* 18: 750–761.

Piñeyro Nelson. A. et. al. (2013). Lineamientos mínimos para un programa nacional de biomonitorio y bioseguridad de OGM en México, En: A. Piñeyro, E. Álvarez. *El maíz en peligro ante los transgénicos: Un análisis integral sobre el caso de México*. México, Centro de Investigaciones, Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, Capítulo 13.

Pleasants J.M. & Oberhauser K.S. (2013). Milkweed loss in agricultural fields because of herbicide use: effect on the monarch butterfly population. *Insect Conservation and Diversity*, 6, 135-144

Price, B., & Cotter, J. (2014). The GM Contamination Register: a review of recorded contamination incidents associated with genetically modified organisms (GMOs), 1997 – 2013. *Price and Cotter International Journal of Food Contamination 2014*, 1:5, 1–13. <http://doi.org/10.1186/s40550-014-0005-8>

Querci, M., Van den Bulcke, M., Zel, J., Van den Eede, G., & Broll, H. (2010). New approaches in GMO detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 396(6), 1991-2002.

Quist D. and Chapela I. (2001). Transgenic DNA Introgressed into Traditional Maize Landraces in Oaxaca, México. *Nature* 414, 541-543.

Ramírez E. (2015). Nueve compañías acaparan 91% de “apoyos” para comercializar maíz. *Contra línea*. Retrieved from <http://www.contralinea.com.mx/archivo-revista/index.php/2015/08/02/nueve-companias-acaparan-91-de-apoyos-para-comercializar-maíz/>

Ramírez M. (2016). Hay ciencia detrás de cada croqueta. Retrieved from: <http://sipse.com/mexico/alimentomascotasunaindustriadejacasi20milmdpanio205323.html>

Rao, J. et al. (2015). Metabolic changes in transgenic maize mature seeds over-expressing the *Aspergillus niger* phyA2. *Plant Cell Reports*, 1–9. <http://doi.org/10.1007/s00299-015-1894-6>

Ravisankar, D.; Chinnusamy, C.; Muthukrishnan, P., (2012). Bio-efficacy evaluation of herbicide resistant transgenic corn hybrids for crop safety and productivity (Mon 89034 x NK603). *Pakistan Journal of Weed Science Research, Special issue*, 18. 873-880

Rendón Aguilar B. et. Al. (2009). Monitoreo de cultivos tradicionales para determinar la presencia de maíz genéticamente modificado. UNIVERSIDAD Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de -INE. 1-21.

Rendón Trejo A., Morales Alquicira A. (2008). Grupos económicos en la industria de alimentos. *Las estrategias de GRUMA. Nueva Época*, Año 21, Número 57. México. 87-112.

Rivera López F. (2009). Análisis de la Presencia de proteínas de maíces genéticamente modificados en variedades de maíz nativo en México. Reporte de trabajo profesional para obtener el título de: Bióloga. UNAM, Facultad de Ciencias. México, D.F.

Rodríguez Méndez L. I. (2013). *Evaluación de propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas de harina y tortilla elaboradas con un proceso de nixtamalización ecológica*. Tesis para obtener el grado de: Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. C.U. Querétaro, Qro.1-25.

Rojas Cruz A. (2010). *Posible presencia de maíz transgénico en Veracruz, México: Marco regulatorio y conocimiento de productores y consumidores*. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de: Doctora en Ciencias. Posgrado en Agrosistemas Tropicales. Colegio de Posgraduados. Campus Veracruz. Tepetates, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz.

Romo P. (2016). Potencial de crecimiento y desarrollo: Industria de alimento para mascotas prevé dinamismo. *El Economista*. Retrieved from: <http://eleconomista.com.mx/estados/2016/06/17/industriaalimentomascotasprevedinamismo>

SAGARPA/ASERCA. (2017). Maíz amarillo. Cosechando Números. En línea. Dirección electrónica: <http://www.numerosdelcampo.sagarpa.gob.mx/publicnew/productosAgricultivos/cargarPagina/3#>

SAGARPA/ASERCA. (2017). Maíz blanco. Cosechando Números. En línea. Dirección electrónica:<http://www.numerosdelcampo.sagarpa.gob.mx/publicnew/productosAgricolas/cargarPagina/4#>

SAGARPA-SIAP. (2014). Atlas agroalimentario México 2014. Primera edición. ISBN: 978-607-9350-03-1 Impreso y hecho en México.

SAGARPA-SENASICA. (2015). Inspección a permisos de liberación al ambiente de OGM 2009-2014. Archivo en línea.

SAGARPA. (2014). Regulación de OGM: Permisos de liberación al ambiente. Archivo PDF en línea.

Salazar López N. J. y Aldana Madrid M. L. (2011). Glyphosate herbicide: Uses, toxicity and regulation. *Revista de Ciencias Biológicas Y de La Salud, Volumen XI*, 23–28.

Salinas Moreno L. et al. (2010). ALKALINE COOKING AND TORTILLA QUALITY IN MAIZE GRAIN FROM THE HUMID AND SUB-HUMID TROPICAL LANDS OF MEXICO. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol.1*, 509–523.

Sanchez-Castañeda A., A (2011). Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul (*Zea mays L*). *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 5-2(2011)*: 75-83

Sánchez Mendoza S.M. (2011). *Aplicación de glifosato como herramienta para la detección de resistencia transgénicas en colectas de maíz nativo*. Tesis para obtener el título de: Ingeniera Agrícola. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 21-29.

Sauka D. y Benintende G. 2008. Bacillus thuringiensis: Generalidades: Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista Argentina de Microbiología*, 40.124-140.

SENASICA-SAGARPA. (2011). Estatus de solicitudes de permiso de liberación al ambiente de organismos genéticamente modificados ingresadas en 2011. (Documento en línea).

Secretaría de Cultura (SC). (2010). Declara UNESCO Patrimonio Inmaterial de la Humanidad a la Cocina Tradicional Mexicana, Los Parachicos en la fiesta de enero en Chiapa de Corzo y la Pirekua, canto del pueblo p'urhepecha.

<http://www.conaculta.gob.mx/noticias/patrimonio-cultural-arquitectura-y-turismo/9436-declara-unesco-patrimonio-inmaterial-de-la-humanidad-a-la-cocina-tradicional-mexicana-los-parachicos-en-la-fiesta-de-enero-en-chiapa-de-corzo-y-la-pirekua-canto-del-pueblo-p%C2%92urhepecha.html>

Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología. 2000. Montreal ISBN: 92-807-1924-6

Secretaría de Economía. (2012). Análisis de la cadena de valor Maíz-Tortilla: Situación actual y factores y competencia local.

Serna-Saldívar S O, C A Amaya-Guerra (2008) El papel de la tortilla nixtamalizada en la nutrición y la alimentación. *In: Nixtamalización del Maíz a la Tortilla. Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos*. M E Rodríguez-García, S O Serna-Saldívar, F Sánchez-Sinencio (eds). Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 105-151.

Serratos Hernández J. A. (2009). Bioseguridad y dispersión de maíz transgénico en México. *Ciencias*, 92–93.

Serratos-Hernández JA, Gómez-Olivares JL, Salinas-Arreortua N, Buendía-Rodríguez E, Islas-Gutiérrez F, de-Ita A. 2007. Transgenic proteins in maize in the soil conservation area of Federal District, Mexico. *Front Ecol Environ* 5: 247–252.

Serratos Hernández J. A., Colín M. (2015). Amicus Curiae. GREENPEACE MEXICO, A.C. Retrieved from <http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/Docs/2015/agricultura/Amicus%20Curiae%20GP-MCCO-JASH.pdf>.

Steffen Riedemann M. C. y Tarrío García M. (2010). Neoliberalismo y crisis Agroalimentaria: adaptación y resistencia de los ejidatarios mexicanos. Análisis del medio rural latinoamericano. 27-30.

Tabashnik, B. E., & Rensburg, J. B. J. V. A. N. (2009). Field-Evolved Insect Resistance to Bt Crops: Definition, Theory, and Data. *JOURNAL OF ECONOMIC ENTOMOLOGY*, 102, 2011–2025.

Tamay De Dios L. et al. (2013). Fundamentos de la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Tecnología En Salud: Investigación En Discapacidad, Volumen 2*, 70–78.

Thongprakaisang S, et al., (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 129-136

Torres Torres F. (1994). La agroindustria del maíz en México. El espacio y el dilema entre tradición y modernismo; el caso de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. *Problemas Del Desarrollo, XXV*, 203–233.

Trejo Pastor V. (2014). *Resistencia a glifosato en maíces nativos de veracruz e híbridos comercializados en México*. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de: Maestra en Ciencias. Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad Genética. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Turrent Fernández A. (2013). Las razones de la demanda colectiva por el derecho humano a la biodiversidad del maíz nativo, En: Turrent Fernández A., et. al. Una coexistencia imposible: Maíces nativos y Maíces transgénicos. La Jornada Veracruz. Suplemento científico de la Jornada Veracruz. Domingo 6 de marzo 2016. Año 6, no. 60

Turrent Moreno Sáenz L.I. (2014). Dependencia de México a las importaciones de maíz en la era del TLCAN. Tesis para obtener el grado de: Maestra en economía aplicada. El Colegio de la Frontera Norte. Tijuana, B.C., México.

UE., (2016). Genetically modified organisms (GMO). Retrieved from http://eur-lex.europa.eu/summary/glossary/genetically_modified_organisms.html

UNESCO, Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (2010). La Lista Representativa del Patrimonio Cultural Inmaterial de la UNESCO se enriquece con 46 nuevos elementos, 16 de noviembre. Retrieved from <http://www.unesco.org/new/es/media-services/single-view/>

- USDA. (2016). Adoption of Genetically Engineered Crops In the U.S. Retrieved from <http://www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-us/recent-trends-in-ge-adoption.aspx>
- Van den Eede, G. (2011). Compendium of reference methods for GMO analyses. Publications Office of the European Union, Luxembourg. Retrieved from http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/docs/GMO_JRC_Reference_Report_2011.pdf
- Van den Berg J. (2012). Field-resistance of the African maize stem borer to Bt maize : what did we learn?. Scientific Conference 2012 Advancing the Understanding of Biosafety GMO Risk Assessment, Independent Biosafety Research and Holistic Analysis. Hyderabad / India
- Vargas Sanchez, et al. (2014). Gruma. A Microeconomic Analysis. *Economía Informa*, (386), 31–50.
- Vavilov, N. (1996(1992)). Origin and Geography of Cultivated Plants. Cambridge: Cambridge University Press.
- Vázquez-Padrón R.I., et al, (2000). Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz. J. Med. Biol. Res*, 33, 147-55
- Vinueza-Burgos, C. (2009). PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10, 1-13.
- Wilcks A, et al., (2004). Persistence of DNA studied in different ex vivo and in vivo rat models simulating the human gut situation. *Food Chem Toxicol*. 43: 493-502.
- Y. Ping-mei, et al. (2011). Comparison of nutrition composition of transgenic maize (chitinase gene) with its non-transgenic counterpart. *Cien. Inv. Agr.*, 38, 149–153.
- Zilic S., Serpen A., Akillioglu G., Gökmen V., & Vacetovic, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 1224-1231

**Anexo I: Distribución de razas de maíz en las zonas ecológicas relacionadas
a los grupos étnicos presentes.**

Región ecológica: Clima y vegetación		Razas de maíz	Grupos étnicos
Selva húmeda	Lacandona	Tuxpeños (criollos y mejorados), Nal-Tel	Lacandones y migraciones recientes de varios grupos
	Soconusco	Vandeño, Zapalote Grande, Tepecintle, Tuxpeños	Mames y otros grupos
	Golfo de México, Oaxaca, S.L.P.	Tuxpeños (criollos y mejorados), Dezit-Bacal, Nal-Tel	Mayas, huastecos, totonacas, chontales, nahuas, popolucas, mixes, mazatecos, tzeltales, choles, tzoltziles, zoques, zapotecos, motozintecos
Árida y semiárida	Llanuras de la Antiplanicie, Sierra Madre Occidental	Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua, Elotes Occidentales, Dulce, Mushito, Chalqueño	Otomíes, pames, nahuas, kikapú, pima, mazahuas
	Declive oriental de la Sierra Madre Occidental: 1800-2400 msnm. Chih., Coah., Zac., S.L.P., Ags., noroeste de Jalisco, norte de Gto.	Cónico Norteño, Cristalino de Chihuahua, Gordo, Bofo, Azul, Tablilla, Elotes Occidentales, Dulce	Tarahumaras, coras, huicholes
	Declives inferiores al oeste de la Sierra Madre Occidental; clima semiárido. Llanuras onduladas, vegas de ríos y declives con bosques, Sonora, Sinaloa	Onaveño, Dulcillo del Noroeste, Blando de Sonora, Tabloncillo Perla, Elotes Occidentales, Reventador, Chapalote, Tuxpeño y Tuxpeño Norteño	Mayos, yaquis
	Costas del centro y norte de Tamaulipas Valle de Tehuacán, Apatzingán	Tuxpeño Norteño, Ratón Tuxpeño, Tuxpeño Norteño	Mestizos Nahuas
Tropical, subhúmeda, Selva mediana subcaducifolia	Península de Yucatán: 0-300 msnm; zona de afloramientos calizos con paisaje cárstico. Campeche y Quintana Roo	Tuxpeños (criollos), Dzit bakal, Nal-Tel	Mayas peninsulares
Selva caducifolia, Selva espinosa	Depresión Central de Chiapas de 500-1500 msnm El Istmo de Tehuantepec;	Olotillo, Zapalote Grande, Tepecintle, Nal-Tel, Vandeño	Tojolabales, tzeltales, tzotziles, chinantecos, zoques

	0-500 msnm; prevalencia de fuertes vientos; llanura aluvial de Oaxaca	Zapalote Chico	Huaves y zapotecos
Continuación..	Valles Centrales de Oaxaca; 1500-1800 msnm; clima subcálido, húmedo y semiárido	Bolita, Vandeño, Celaya (mejorado)	Zapotecos
	La Mixteca; 1800-2400 msnm; clima templado húmedo; declives pequeñas planicies vegas muy estrechas Oaxaca	Cónico, Chalqueño, Bolita	Mixtecos, chochos, popolocas, cuicatecos, chatinos, mazatecos
	Cuenca del río Balsas; 0-1500 msnm. Clima cálido húmedo. Sur de Mich., Edo. de Méx., Mor., Pue., y Gro.	Pepitilla, Tabloncillo, Ancho Pozolero, Vandeño, Olotillo, Conejo, Nal-Tel, Tuxpeño	Nahuas, tlapanecos, mixtecos amuzgos
	Llanura de Jal., y el Bajío 1000-2000 msnm. Clima templado húmedo, y subcálido húmedo. Col., Jal., Gto., y Mich.	Tabloncillo, Celaya (mejorados), Elotes Occidentales, Dulces, Cónico Norteño, Zamorano	Sin información
Tropical subhúmeda.	Declives inferiores al Oeste de la Sierra Madre Occidental y	Tabloncillo,	
Selva mediana subcaducifolia	Llanura Costera, Nayarit; clima cálido húmedo subhúmedo; en llanuras, vegas de ríos y	Tabloncillo Perla, Tuxpeño, Tuxpeño Norteño,	Mayos , tepehuanos, coras, guarijios, huicholes
Selva baja caducifolia,	declives con bosques y vegetación secundaria.	Jala, Reventador, Elotes Occidentales,	
Selva espinosa	Sonora, Sinaloa, Nayarit	Tablilla de Ocho	
Templada húmeda	Chiapas	Olotón	Zoques
Bosque mesófilo de montaña	Veracruz, Puebla, Oaxaca	Olotón, Chiquito	Nahuas, totonacos, mazatecos, zapotecos
Templada subhúmeda	Sierra sur de Chiapas	Salpor, Olotón, Negro de Chimaltenango	Sin información
Bosque de pino encino	Mesa Central; 1800-2700 msnm; clima templado húmedo; valles intermontanos, vegas declives, Michoacán, Guanajuato, Hidalgo, México, Queretaro, Tlaxcala, norte de Morelos, Puebla y occidente de Veracruz	Cónicos, Chalqueño, Elotes Cónicos, Cacahuacintle, Palomero, Toluqueño, Arrocillo, Cónico Norteño	Purhépechas, mazahuas, nahuas, otomíes

Adaptado de Kato et al. 2009.

Anexo II. Eventos transgénicos de maíz aprobados en México, Estados Unidos y Sudáfrica para consumo humano y animal.

Nombre del evento transgénico de maíz	Promotor CaMV 35s	Terminador Nos	Países	Aprobado para consumo animal y humano
Bt11	Si	Si	Estados Unidos	1996
			Sudáfrica	2002
			México	2007
Bt11 x 59122 x MIR604 x TC1507 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	
			Sudáfrica	
			México	
Bt11 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2007
Bt11 x MIR162 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2010
Bt11 X MIR162 X MIR604 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2010
Bt11 X MIR162 X TC1507 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2011
Bt11 x MIR604	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2007
Bt11 x MIR604 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2008
DAS40278	No	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
DAS40278 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2002
GA21	No	Si	Estados Unidos	1996
			Sudáfrica	2002
			México	2002
GA21 x T25	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2015
LY038	No	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2007
LY038 x MON810	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-

			México	2008
MIR162	No	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
MIR604	No	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2007
MIR604 x GA21	No	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2008
			México	2007
MON810	Si	No	Estados Unidos	1996
			Sudáfrica	1997
			México	2002
MON810 x MON88017	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2006
MON863	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2003
MON863 x MON 810	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2006
MON863 x MON 810 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2006
MON89034 X NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2010
			México	2010
MON87427	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2012
MON87427 X MON89034 X MON88017	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
MON87427 x MON89034 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
MON87427 x MON89034 x TC1507 x MON88017 x 59122	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
MON87460	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
MON87460 x MON89034 X MON88017	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
	Si	Si	Estados Unidos	-

MON87427 x			Sudáfrica	-
MON89034 x NK603			México	2013
MON87460 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2012
MON88017	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2006
MON89034	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2008
MON89034 X MON88017	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
MON89034 X NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2010
			México	2010
MON89034 x TC1507 x MON88017 x 59122	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2010
MON89034 x TC1507 x MON88017 x 59122 x DAS40278	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
MON89034 x TC1507 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
MON89034 x TC1507 x NK603 x DAS40278	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
NK603	Si	Si	Estados Unidos	2000
			Sudáfrica	2002
			México	2002
NK603 x MON810	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2004
			México	2004
NK603 x T25	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
T25	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2007
TC1507	Si	No	Estados Unidos	2001
			Sudáfrica	2002
			México	2003
TC1507 x 59122 x MON810 x MIR604 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
	Si	Si	Estados Unidos	-

TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603			Sudáfrica	-
TC1507 x 59122	Si	No	México	2013
			Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2006
TC1507 x 59122 x MON810 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
TC1507 x 59122 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2006
TC1507 x MIR162 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2015
TC1507 x MIR604 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2011
TC1507 x MON810	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2014
			México	2010
TC1507 x MON810 x MIR162	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2015
TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
TC1507 x MON810 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2014
			México	2010
TC1507 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2011
			México	2004
3272	No	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2008
3272 x Bt11 x MIR604 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
4114	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2014
5307	No	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2013
5307 x MIR604 x Bt11 x TC1507 x GA21	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2014
			México	2013
	Si	Si	Estados Unidos	-

5307 x MIR604 x			Sudáfrica	2014
Bt11 x TC1507 x			México	2013
GA21 x MIR162				
59122	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2004
59122 x NK603	Si	Si	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	2006
			México	2006
98140	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2008
98140 X 59122	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
98140 x TC1507	Si	No	Estados Unidos	-
			Sudáfrica	-
			México	2010
98140 x TC1507 x	Si	No	Estados Unidos	-
59122			Sudáfrica	-
			México	2010

Elaborado con datos de la Cofepris y Cera.org.

Anexo III. Casos de presencia de maíz transgénico en México.

Año	Especie/Producto	Lugar	Proteína transgénica/marcador	Comentario	Referencia.
2000	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Oaxaca	p35S	Primer caso reportado de maíz transgénico.	(Quist D. and Chapela I., 2001),
2001-2004	Maíz (<i>Zea mays</i>)	En la Sierra Juárez, del estado de Oaxaca	p35S		(Piñeyro Nelson <i>et al.</i> , 2009)
2002	Maíz (<i>Zea mays</i>)	En regiones de los estados de Guanajuato, Veracruz, Oaxaca y Yucatán	Bt-Cry 1Ab/Ac y CP4 EPSPS		(Dyer, G <i>et al.</i> ,2009)
2002	Maíz (<i>Zea mays</i>)	En comunidades de Puebla y Oaxaca	p35S	Se atribuye a granos importados y distribuidos por DICONSA	(Ita A., 2012)
2003	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Área de conservación del D.F.	p35S		(Serratos-Hernández, <i>et al.</i> 2007)
2003	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Chihuahua (Sierra Tarahumara), Puebla (Sierra Norte), Veracruz (Los Tuxtla), Oaxaca (Sierra Juárez y Valles Centrales).	Bt- Cry 1Ab/Ac, CP4 EPSPS, Bt-Cry 9c (Starlink), RR y Bt, RR/Starlin, RR Bt y Starlink.	Realizado en milpas tradicionales	(Rivera López F., 2009a)

2003	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Chihuahua (Sierra Tarahumara), Puebla (Sierra Norte), Veracruz(Los Tuxtlas),y Oaxaca (Sierra Juárez, Valles Centrales).	Bt-Cry 1Ab/Ac, CP4 EPSPS y Bt- Cry 9c	Análisis de milpas campesinas e indígenas.	(Rivera López F. 2009)
2003	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Chihuahua, Morelos, Durango, México, San Luis Potosí, Puebla, Oaxaca, Tlaxcala y Veracruz	No se especifica.	Se realizó en 104 comunidades campesinas de 11 estados, de los cuales en 9 encontró alguna presencia de genes transgénicos en el maíz nativo,	(Cárcamo M. I. et al., 2011; Ita A., 2012)
2004	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Puebla y Oaxaca.	Bt-Cry 9C y Bt-Cry1 AB	Detección de transgenes en maíz criollo.	(Álvarez-Buylla R. E., 2004)
2004	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Hidalgo (Huasteca), Tabasco (Macuspana),	Bt-Cry 1Ab/Ac, CP4 EPSPS y Bt-Cry 9c	Realizado en milpas tradicionales	(Rivera López F., 2009)
2005	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Chiapas (Palenque), Oaxaca (Istmo de Tehuantepec	Bt Cry 9c, RR/ Starlink	Realizado en milpas tradicionales	(Rivera López F., 2009c)
2006-2007	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Veracruz	MON810, MON802, entre otros.		(Rojas Cruz A., 2010)
2006	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Valles Centrales y Sierra Juárez de Oaxaca	Bt-Cry 1Ab/Ac y CP4 EPSPS	En plantas con malformaciones.	(Rivera López F., 2009d)
2006	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Distrito de Ixtlán, en la Sierra Norte, Oaxaca	p35s y Resistencia a glufosinato	Análisis en maíz criollo	(Landavazo Gamboa D. A. et al., 2006)
2008	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Delegaciones Tlalpan y Xochimilco	p35s y tnos	Aún no se determina si la siembra fue intencional o accidental	(Rendón Aguilar B. et. Al. 2009).

2008	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Mixteca baja y en la Sierra Nororiental en el estado de Puebla.		p35s y tnos		(Carreón Herrera N. I., 2011)
2009-2012	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango y Nayarit.		MON21-9 con el gen epsps, MON-603-6 con los genes Cp4 epsps y cp4 epsps 1214p, MON810-5 con Cry 1Ab, entre otros.	Se han solicitado liberar maíz GM: 178 en etapa experimenta, y 47 en etapa piloto	(CONABIO, 2012)
2011	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Sonora		p35S	Se encuentra una planta resistente al glifosato proveniente de Sonora, sin embargo se ignora la procedencia de la misma	(Sánchez Mendoza S.M., 2011)
2011	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Bahía de Banderas, Nayarit	de	DAS-Ø15Ø7-1	PHI México, S.A. de C.V. Siembra maíz de manera experimental en 0.0768 ha.	(SENASICA-SAGARPA, 2011)
2011	Soya (<i>Glycine max</i> L)	Bahía de Banderas, Nayarit	de	MON-Ø4Ø32-6	PHI México, S.A. de C.V. Siembra soya de manera piloto en 1.7 ha.	(SENASICA-SAGARPA, 2011)
2013	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Hidalgo Estado México	y de	p35S y TNOS		(Peña Betancourt S.D., 2013)

Anexo IV. Protocolo modificado de Doyle and Doyle para extracción de ADN de alimentos de origen vegetal

Toma de muestra: Con una pinza esterilizada, el analista debe tomar aproximadamente 1 gramo del alimento y colocarlo en un mortero limpio para realizar la pulverización con nitrógeno líquido. Posteriormente debe pesar de 40 a 45 miligramos del pulverizado resultante y colocarlos en un tubo de 2.2ml para proseguir con la extracción del ADN.

- A) Agregar 1000 μ L de Buffer de Extracción precalentado
- B) Mezclar bien: Invertir el tubo varias veces
- C) Incubar a 65°C, de 1 a 2hs. Agitar c/15´.
- D) Desproteínizar con 500 μ L de Cloroformo: Octanol (24:1). Mezclar por inversión enérgica durante 5´.
- E) Centrifugar 5´ a 12 krpm.
- F) Tomar con cuidado la fase acuosa (superior) y colocarla en un tubo epp. 2.2 ml.
- G) Repetir los pasos d y e (Re---extracción).
- H) Centrifugar 10´, 12 krpm.
- I) Tomar el sobrenadante y transferirlo a otro epp. 2.2 ml.
- J) Agregar 0,8 volúmenes de isopropanol frío (i---PrOH).
- K) Invertir el tubo 10 veces
- L) Centrifugar 5´, 12 krpm.
- M) Descartar sobrenadante con cuidado
- N) Lavar con 1000 μ L de EtOH 70%.
- O) Centrifugar 1´, 12 krpm.
- P) Descartar sobrenadante con cuidado. Secar en vacuosecador rotatório (Speed Vac).
- Q) Resuspender en 100 μ L H₂O mQ. Re-disolver durante 10 horas en hielo (no olvidar rotular).

El analista debe etiquetar la muestra de ADN resultante y depositarla en una caja rotulada. Dicha caja se almacenará en un freezer a temperatura de -20°C, especialmente utilizado para almacenar muestras de ADN, hasta la realización del próximo ensayo.

ANEXO V: Curvas de amplificación y temperaturas de disociación (Tm) ó Curvas de Melting para promotor CaMV 35s y terminador Nos.

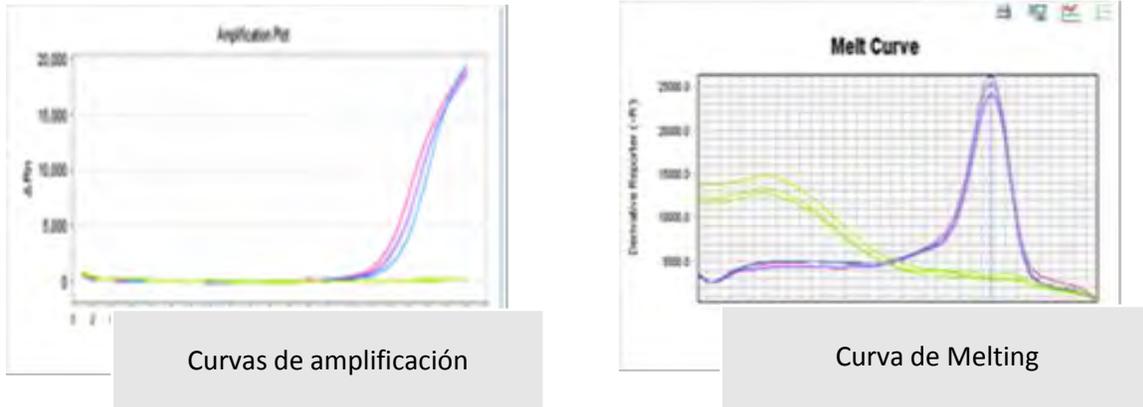


Figura 31: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del marcador promotor CaMV 35s en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de Tm, característico del control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C) = 80 ± 1) y una curva sin amplificación del control negativo.

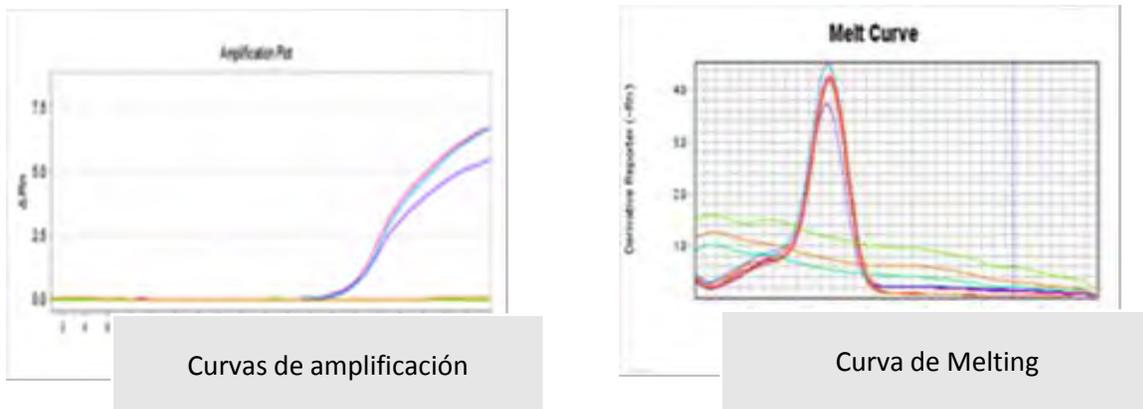


Figura 32: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del marcador t-Nos en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de Tm,

característico del control positivo de la secuencia buscada (T_m ($^{\circ}\text{C}$) = 73 ± 1) y una curva sin amplificación del control negativo.

ANEXO VI: Curvas de amplificación y temperaturas de disociación (T_m) ó Curvas de Melting para los eventos transgénicos de maíz monitoreados.

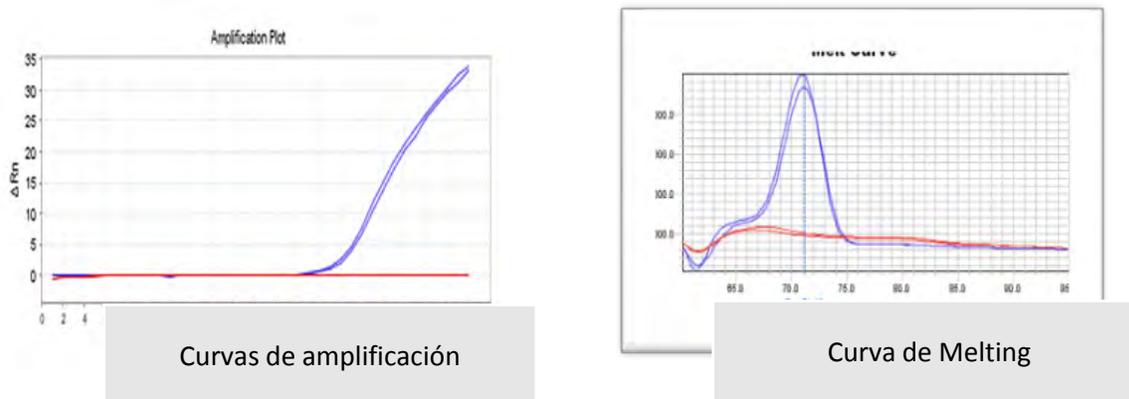


Figura 33: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento Bt11 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m , característico del control positivo de la secuencia buscada (T_m ($^{\circ}\text{C}$)= 72 ± 1) (en color azul) y una curva sin amplificación del control negativo (en rojo).

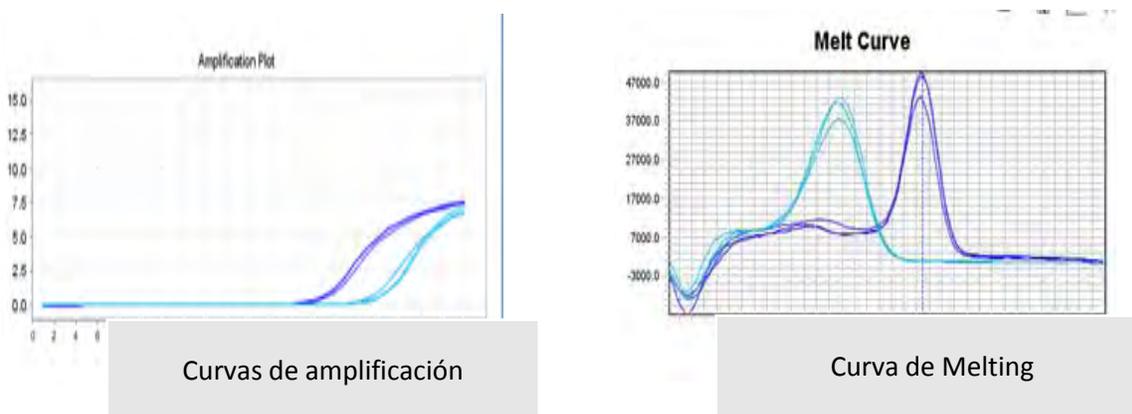


Figura 34: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento Bt176 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m ,

característico para el control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C)= $80\pm 1.$), y una curva con amplificación inespecífica del control negativo.

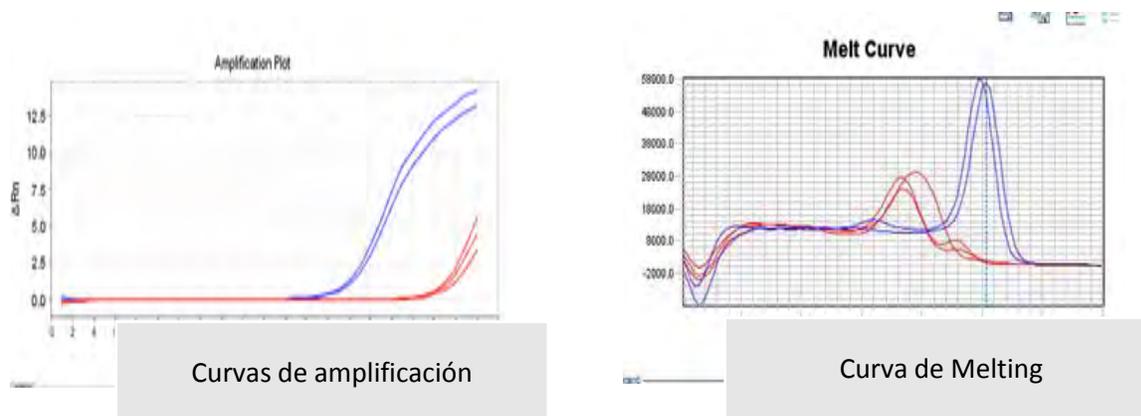


Figura 35: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento Ga21 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m , característico para el control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C)= $86\pm 1.$), y una curva sin amplificación del control negativo.

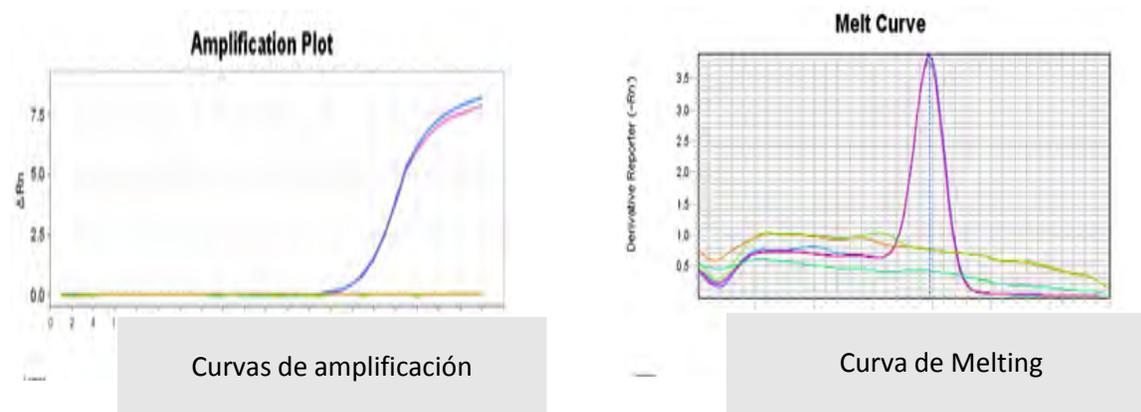


Figura 36: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento Nk603 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m ,

característico para el control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C)= 80 ± 1), y una curva sin amplificación del control negativo.

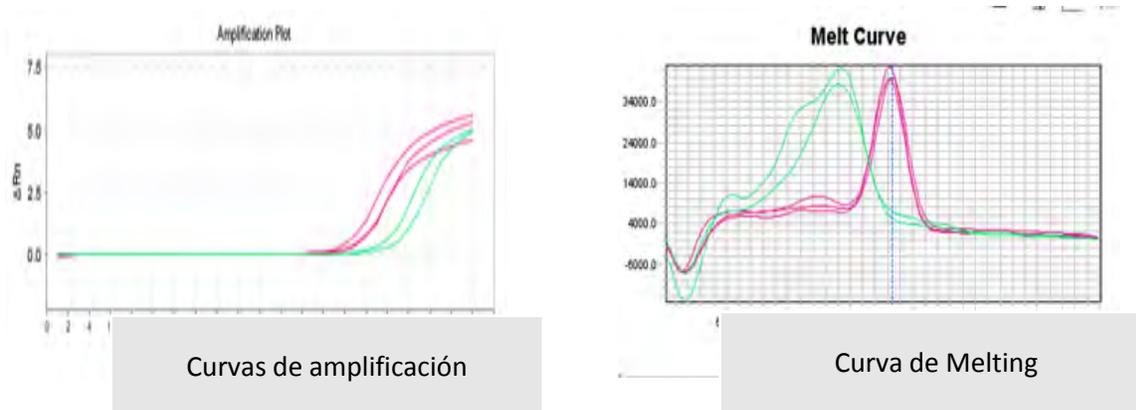


Figura 37: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento MON810 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m , característico para el control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C)= 79 ± 1), y una curva con amplificación inespecífica del control negativo.

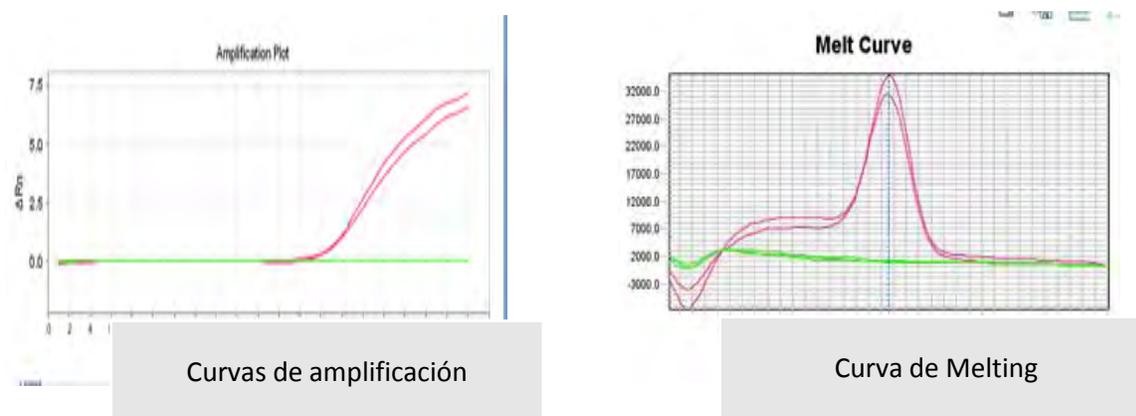


Figura 38: Ejemplos de Curva de amplificación y Curva de Melting obtenidas en la identificación del evento TC1507 en las muestras de maíz. Curva de amplificación (representación línea) (izquierda). Curva de disociación obtenidas con los cebadores F/R (derecha), y se observa un pico único de T_m , característico para el control positivo de la secuencia buscada (T_m (°C)= 78 ± 1), y una curva sin amplificación del control negativo.