



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**DETECCIÓN DE TRANSGENES EN VARIEDADES
NATIVAS DE MAÍZ EN DOS REGIONES DEL
ESTADO DE PUEBLA**

NAYELI ITZELL CARREÓN HERRERA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2011



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

CAMPUE- 43-2-03 ANEXO

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe **Nayeli Itzell Carreón Herrera** alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Higinio López Sánchez** por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Detección de transgenes en variedades nativas de maíz en dos regiones del estado de Puebla.** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla 11 de mayo de 2011.

Nayeli Itzell Carreón Herrera

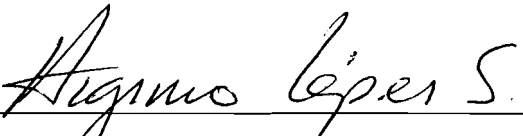
Vo. Bp. Dr. Higinio López Sánchez

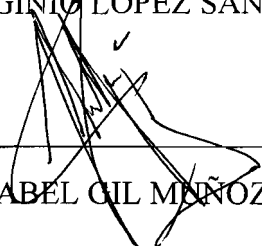
La presente tesis titulada: **Detección de transgenes en variedades nativas de maíz en dos regiones del Estado de Puebla**; realizada por el alumno: **Nayeli Itzell Carreón Herrera**; bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

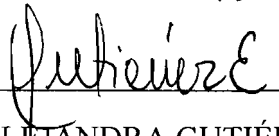
MAESTRA EN CIENCIAS

PROGRAMA EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

ASESOR: 
DR. ABEL GIL MÉNDEZ

ASESORA: 
DRA. M. ALEJANDRA GUTIÉRREZ ESPINOSA

ASESORA: 
DRA. ERNESTINA VALADEZ MOCTEZUMA

Puebla, Puebla, México, Mayo de 2011.

DETECCIÓN DE TRANSGENES EN VARIEDADES NATIVAS DE MAÍZ EN DOS REGIONES DEL ESTADO DE PUEBLA

Nayeli Itzell Carreón Herrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

La presencia de transgenes en variedades nativas de maíz mexicano ha sido motivo de controversia. Se sospecha una posible introducción a través de las tiendas rurales DICONSA (TRD). El objetivo de este estudio fue precisar si plantas provenientes del grano expandido por las TRD al sembrarse llegan a antesis, y si esta coincide con la floración femenina de los maíces nativos de municipios de la Mixteca Baja en el Estado de Puebla. También se buscó cuantificar secuencias transgénicas, particularmente el promotor del Virus Mosaico de la coliflor (CaMV, por sus siglas en inglés) -35S en variedades nativas de maíz y en granos provenientes de TRD. Para el primer objetivo, en 2008 se establecieron dos experimentos en campo evaluando 46 poblaciones nativas y 23 muestras de grano de TRD; registrando variables morfológicas y agronómicas, así como la dinámica de floración; los datos se analizaron con técnicas univariadas y multivariadas. Se encontró que las plantas provenientes de los granos de maíz de las TRD llegaron a antesis y que sus períodos de floración se traslaparon con los de las poblaciones nativas. Para el segundo objetivo se cuantificó el promotor CaMV-35S en 47 muestras de maíz colectadas en la Mixteca Baja y en la Sierra Nororiental, mediante la técnica molecular de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo-Real, con el kit comercial TaqMan[®] GMO Maize 35S y estándares de referencia certificados. Se detectó la presencia del promotor CaMV-35S en el 36 % de las muestras evaluadas en poblaciones nativas y de las TRD, en porcentajes ubicados entre los estándares de referencia de 0.31 y 0.01%.

Palabras Clave: Maíz transgénico, Variedades nativas, Promotor CaMV-35S, PCR Tiempo-Real, Flujo génico.

TRASNGENE DETECTION IN MAIZE LANDRACES IN TWO REGIONS OF PUEBLA. MÉXICO

Nayeli Itzell Carreón Herrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

The presence of transgenes in Mexican maize landraces has been controversial. It is suspected that DICONSA rural stores (DRS) are the way of transgene introduction. The objective of this study was to precise if plants grown from grain expended by DRS will come to pollen shed, and if this coincides with silking of plants of landraces in the Mixteca Baja in Puebla State. Also, transgenic sequences were quantified, specifically the Cauliflower Mosaic Virus 35S promoter, in seeds from native maize landraces and grain from DRS. For the first objective, in 2008 two field experiments were established to evaluate 46 native populations and 23 grain samples from DRS, measuring morphological and agronomic features, as well as flowering dynamic. Data were analyzed with univariate and multivariate techniques. It was found that plants from DRS grain reached anthesis and that their flowering period matched with those of native populations. For the second aim the CaMV-35S was quantified in 47 samples collected in the Mixteca Baja and the Northeast Sierra, by the Real Time Polymerase Chain Reaction, with the commercial TaqMan® GMO Maize 35S kit, and certified reference standards. The CaMV-35S was detected in 36% of native population samples and DRS, at amounts between the 0.31 and 0.01 % reference standards.

Keywords: Transgenic maize, maize landraces, CaMV-35S Promoter, RT-PCR, Gene flow, Flowering dynamics

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el financiamiento económico otorgado para realizar mis estudios de Maestría en Ciencias y las personas que mediante sus impuestos contribuyeron con esto.

Al **Colegio de Postgraduados, Campus Puebla**, por la formación académica y científica recibida durante mis estudios de Maestría en Ciencias y por el apoyo económico brindado para la conducción de este proyecto.

Se agradece el apoyo financiero recibido del Colegio de Postgraduados a través de la **LÍNEA PRIORITARIA DE INVESTIGACIÓN 6: CONSERVACIÓN Y MEJORAMIENTO DE RECURSOS GENÉTICOS** durante el año 2008 al proyecto de investigación integrador “ESTUDIO DE DIVERSIDAD GENÉTICA EN LA REGIÓN DE LOS VALLES DE LIBRES Y SERDÁN, PUEBLA”, específicamente al subproyecto “**CARACTERIZACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE MAÍZ EN LA REGIÓN DE LIBRES Y LOS LLANOS DE SERDÁN, PUEBLA**”, del cual se derivó la presente investigación.

Al **Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla (CONCyTEP)**, por la beca otorgada en el programa de becas tesis CONCyTEP 2010.

A las **Dras. M. Alejandra Gutiérrez Espinosa y Ernestina Valadez Moctezuma** y los Drs. **Higinio López Sánchez y Abel Gil Muñoz**, miembros de mi Consejo Particular, por cada una de sus aportaciones y enriquecimiento para la elaboración de este proyecto.

A los señores Benigno **Cardoso Martínez**, **Jesús Flores** y al **M.C. Alejandro Martínez** encargado del Trapiche Nuevo Ixcateopan, por prestar sus terrenos donde se establecieron los experimentos.

A los **Doctores: Pedro Antonio López, Oswaldo R. Taboada Gaytán, Juan de Dios Guerrero Rodríguez, Enrique Ortiz Torres, Amalio Santacruz Varela** y al **M. C. Ernesto Aceves**, por su participación en la colecta de semillas, siembra, cosecha y en la toma de datos para los experimentos establecidos en campo y apoyo en el laboratorio.

A los **compañeros** voluntarios del Colegio de Postgraduados, **amigos cercanos y familiares**, por su participación en la colecta de semillas, siembra, cosecha y en la toma de datos para los experimentos establecidos en campo y apoyo en el laboratorio.

A los integrantes del **Laboratorio de Biología Molecular** del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y al **Laboratorio de Cultivo *in-vitro*** del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo.

Al **Dr. Ángel Villegas Monter**, por brindarme su apoyo moral y consejo cuando más era necesario.

A mi **familia** por todo su apoyo incondicional y ánimo para que siguiera y siga siempre adelante.

A los que no son de mi familia, no son conocidos, no son compañeros, sino más que todo eso: mis **AMIGAS** y **AMIGOS**, por compartir su vida conmigo.

Para **TI** que de algún modo, me has acompañado durante esta etapa.

DEDICATORIA

A mis Padres y Hermanos.

Experimenta.

¡Experimenta!

Haz de ello tu consigna día y noche.

Experimenta, y ello te llevará a la luz.

La manzana en la copa del árbol nunca está demasiado alta para alcanzarla.

Así que sigue el ejemplo de Eva... ¡Experimenta!

Sé curioso, aunque los amigos con quien te cruces se puedan molestar.

Enójate, cada vez que quieran retenerte.

Si sólo sigues este consejo, el futuro puede ofrecerte infinita felicidad y alegría...

Experimenta.

¡Y ya verás!

Cole Porter

TODA CIENCIA IMPLICA RIESGOS

Norman E. Borlaug

CONTENIDO

	Página
I INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Planteamiento del Problema.....	3
1.2 Objetivos.....	4
1.3 Hipótesis.....	5
1.4 Literatura Citada.....	6
II FLUJO GÉNICO ENTRE MAÍCES COMERCIALIZADOS POR DICONSA Y POBLACIONES NATIVAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO.....	9
2.1 Resumen.....	10
2.2 Abstract.....	11
2.3 Introducción.....	12
2.4 Materiales y Métodos.....	14
2.5 Resultados y Discusión.....	19
2.6 Conclusiones.....	30
2.7 Agradecimientos.....	31
2.8 Literatura Citada.....	31

III	DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL PROMOTOR CaMV-35S EN SEMILLAS DE MAÍZ MEDIANTE PCR TIEMPO-REAL, EN DOS REGIONES DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO	35
3.1	Resumen.....	36
3.2	Abstract.....	37
3.3	Introducción.....	38
3.4	Materiales y Métodos.....	39
3.5	Resultados y Discusión.....	44
3.6	Conclusiones.....	50
3.7	Agradecimientos.....	50
3.8	Literatura Citada.....	51
IV	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES.....	55
4.1	Conclusiones.....	56
4.2	Recomendaciones.....	58

LISTA DE CUADROS

	Página
II: FLUJO GÉNICO ENTRE MAÍCES COMERCIALIZADOS POR DICONSA Y POBLACIONES NATIVAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO.	
Cuadro 1. Relación de muestras incluidas en los experimentos de campo. Mixteca Poblana, 2008.....	18
Cuadro 2 Análisis de varianza combinado para las variables medidas en los experimentos establecidos en la Mixteca Poblana, 2008.....	21
Cuadro 3. Valores promedio de diferentes variables medidas en el conjunto de poblaciones nativas (PN) de maíz y en el de materiales obtenidos en tiendas Diconsa (MI). Mixteca Poblana, 2008.....	22
III. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL PROMOTOR CaMV- 35S EN SEMILLAS DE MAÍZ MEDIANTE PCR TIEMPO-REAL, EN DOS REGIONES DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO	
Cuadro 1. Procedencia de las colecciones de semilla y grano de maíz para el estudio de cuantificación del promotor CaMV-35S.....	41
Cuadro 2. Resultados de la PCR Tiempo Real para detección del promotor CaMV-35S.....	46

LISTA DE FIGURAS

		Página
II. FLUJO GÉNICO ENTRE MAÍCES COMERCIALIZADOS POR DICONSA Y POBLACIONES NATIVAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO.		
Figura 1.	Ubicación de los municipios de colecta y de los experimentos en campo. Mixteca Poblana, Puebla, México, 2008.....	15
Figura 2.	Distribución de los 72 materiales de maíz en estudio, de acuerdo con los valores propios del primer y segundo componente principal. Mixteca Poblana, 2008.....	23
Figura 3.	Dendrograma de los 72 materiales de maíz estudiados en la Mixteca Poblana, 2008.....	25
Figura 4.	Dinámica de floración masculina (M) y femenina (F) en días después de la siembra (dds), para poblaciones nativas y materiales introducidos de maíz, Mixteca Poblana, 2008.....	26
III. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL PROMOTOR CaMV-35S EN SEMILLAS DE MAÍZ MEDIANTE PCR TIEMPO-REAL, EN DOS REGIONES DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO		
Figura 1.	Zonas de colecta de semilla de poblaciones nativas de maíz y grano proveniente de las tiendas DICONSA en dos regiones del Estado de Puebla, México 2008.....	40
Figura 2.	Curvas estándar para el promotor CaMV-35S, generadas a partir de concentraciones conocidas de referencias que contenían el promotor.....	45
Figura 3	Intervalos de amplificación para el promotor CaMV-35S y amplificación detectada en la muestra 124 (M.124) y 135 (M.135).....	47
Figura 4.	Intervalos de amplificación para el promotor CaMV-35S, y amplificación en la muestra 124 (M.124) y 109 (M.109).....	48

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

En años recientes, muchas plantas genéticamente modificadas han sido aprobadas para su cultivo y comercialización en diferentes países, por ejemplo soya con 69.3 millones de hectáreas, maíz con 41 millones de hectáreas, algodón con 16.1 millones de hectáreas y canola con 6.5 millones de hectáreas, en EU. Brasil, Canadá, India, Argentina, China, entre otros (Agrobio México, 2009). En consecuencia, entre 1996 y 2004, el área global sembrada con cultivos biotecnológicos se incrementó un 47 %: de 1.7 millones de hectáreas en 1996 a 81.0 millones de hectáreas en 2004 (James, 2004). En 2004 había 140 millones de hectáreas de maíz creciendo en el mundo, de las cuales el 14 % eran de variedades modificadas genéticamente (James, 2004).

En 1996, dos años después de que el Tratado de Libre Comercio con América del Norte (TLCAN) permitió el aumento en las exportaciones de maíz de Estados Unidos a México, lo que facilitó el comercio de productos que podrían ser transgénicos o derivados de ellos (Serratos, 2009), provocando preocupación en México por los posibles efectos en el maíz nativo. En 1999, el Gobierno Mexicano introdujo una moratoria *de facto* a la experimentación y producción de maíz genéticamente modificado, pero no restringió la importación de este tipo de maíz para fines de consumo (CEC, 2004). Cabe mencionar que no había (y no existe a la fecha) obligación alguna de 'etiquetar' los embarques de importación, indicando si es o no maíz transgénico, por lo que regularmente llegan cargamentos que contienen (en proporciones variables) granos de maíz transgénico. Ante esta situación, en el año 2000, 150 organizaciones no gubernamentales demandaron una prohibición completa a la importación de maíz transgénico. Ese mismo año, el Gobierno Mexicano firmó el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la

Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica (Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica, 2000), implicando la adhesión al principio precautorio.

Actualmente (año 2011), en México todavía no está permitido el cultivo a nivel comercial de maíz transgénico. No obstante lo anterior, en el 2001, Quist y Chapela (2001) publicaron un artículo en la revista *Nature* en el cual documentaron la presencia de transgenes en variedades nativas de maíz en Oaxaca. Sus resultados provocaron una gran controversia –véase el trabajo de Christou (2002) –, la cual continúa al momento.

La posibilidad de que hubiera ocurrido flujo génico entre materiales transgénicos y poblaciones nativas de maíz en México generó preocupación entre diversos sectores de la comunidad científica y de la sociedad mexicana, baste citar los trabajos publicados por la Comisión para la Cooperación Ambiental (CEC, 2004) y por Greenpeace al respecto (Carrasco, 2008).

Trabajos recientes, como el de Dyer *et al.* (2009), en un estudio conducido a nivel nacional, reportaron haber encontrado las proteínas recombinantes Cry1Ab/Ac y CP4/EPSPS en 3.1 y 1.8 % del total de muestras por ellos estudiadas (419 muestras). Agregaron que ambas fueron más abundantes en el sureste de México, pero que también estuvieron presentes en la región centro-occidente, y en el trabajo preliminar de Herrera *et al.* (2002), se señala que se detectaron 13 parcelas positivas para secuencias con el promotor CaMV-35S, que representa el 44% de las 29 parcelas que fueron analizadas en su estudio para el estado de Oaxaca.

Todo esto justifica la necesidad de continuar realizando investigaciones tendientes a precisar con mayor detalle si ha habido flujo génico en otras regiones del país y, si ello ha ocurrido, a indagar

cuáles podrían ser algunas de las causas de ello. Ambos aspectos constituyen el tema central de la presente investigación.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aun cuando en México no se ha permitido el cultivo comercial de maíz transgénico, diversos estudios (Quist y Chapela, 2001; Ezcurra *et al.*, 2001), que han sido motivo de una gran polémica científica (Christou, 2002), han reportado la presencia de secuencias transgénicas en variedades criollas de maíz. Trabajos posteriores, como el de Ortiz-García *et al.* (2005), al no encontrar evidencias de la presencia de secuencias transgénicas, señalaron que los transgenes encontrados inicialmente por Quist y Chapela (2001) habían sido ‘suprimidos’ o ‘borrados’ del genoma de las variedades criollas. No obstante, existe una alta probabilidad de que transgenes del tipo *Bt* que confiere resistencia a insectos y *RR* que confiere resistencia a glifosato estén presentes en variedades nativas, pues son los materiales genéticamente modificados comúnmente usados alrededor del mundo (Scott *et al.*, 2005). A la fecha se han planteado varias posibles fuentes de introducción de transgenes al país, tales como la introducción de semillas provenientes de Estados Unidos, el intercambio de semillas entre productores, y por medio de la importación y distribución de grano por las tiendas Diconsa (Louette 1995; Mercer *et al.*, 2008; Dyer *et al.*, 2009; Snow, 2009)

Dado que México es considerado centro de origen y diversidad del maíz (Vavilov, 1930; Matsuoka *et al.*, 2002), la posibilidad de que exista flujo génico de maíces genéticamente modificados a las poblaciones nativas de maíz, y de que ello pudiera afectar en alguna forma la diversidad genética del cultivo, se ha constituido en un tema de vital importancia para amplios

sectores académicos y de la sociedad, como lo evidenció el Informe del Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental (CEC, 2004).

Por lo anterior es importante realizar estudios encaminados a la detección y cuantificación de la presencia o ausencia de transgenes en las variedades nativas de las diversas regiones del país. En el caso del Estado de Puebla se han identificado cuando menos dos regiones donde existen condiciones que facilitan la introducción de maíz (grano o semilla) del exterior. La primera región abarca los municipios de Chichiquila, Quimixtlán y Chilchotla, pertenecientes a la Sierra Nororiental, y la segunda a la región Mixteca. En ambas se presenta una alta demanda de granos de maíz debido a que son zonas donde la producción agrícola se enfrenta a diversas restricciones ambientales lo que ocasiona rendimientos bajos o nulos. Otro factor que aumenta la posibilidad de introducción de material genético foráneo es el hecho de que son zonas de alta marginación (CONAPO, 2005), por lo que los índices de migración son altos.

Bajo estas consideraciones fue que se planteó el presente trabajo de investigación.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General

Desarrollar un estudio en las regiones Mixteca y Sierra Nororiental en el Estado de Puebla para precisar la existencia o no de secuencias transgénicas entre las poblaciones nativas de maíz allí cultivadas, así como en el grano de este cultivo distribuido por las tiendas Diconsa, y explorar la posibilidad de flujo génico entre ambos tipos de material genético.

1.2.2 Particulares

1. Analizar la factibilidad de flujo génico vía polen entre plantas desarrolladas a partir del grano comercializado por las tiendas Diconsa y poblaciones nativas de maíz, en la región de la Mixteca Poblana.
2. Desarrollar un estudio amplio, encaminado a detectar y cuantificar la presencia del promotor CaMV-35S en semillas nativas de maíz y en muestras de granos provenientes de tiendas Diconsa, adscritas a los almacenes de Tecamatlán y San Bernardo Acatlán en la Mixteca Poblana y González Ortega en la Sierra Nororiental.

1.3 HIPÓTESIS

1.3.1 General

Existe la posibilidad de que el promotor CaMV-35 esté presente entre las muestras de maíz colectadas en la Sierra Nororiental y en la Mixteca Poblana, y de que ocurra flujo génico entre plantas producidas a partir del maíz comercializado por las tiendas Diconsa y aquellas producidas por semilla de las poblaciones nativas de maíz de ambas regiones.

1.3.2 Particulares

1. Las plantas provenientes del grano de tiendas Diconsa pueden adaptarse a las condiciones ambientales de la Mixteca y llegar a antesis, coincidiendo con la etapa de floración de los maíces nativos allí cultivados.
2. Se encontrarán muestras de maíz provenientes de la Sierra Nororiental y la Mixteca en el Estado de Puebla, en las cuales estará presente el promotor CaMV-35S.

1.4 LITERATURA CITADA

Agrobio México. 2009. Fuente Reporte ISAAA 2009. <http://www.agrobiomexico.org.mx/uploaded/documento27.pdf> (consultado en Mayo 2011)

Carrasco, J. F. 2008. La coexistencia sigue siendo imposible. Testimonios de la contaminación. Greenpeace. Barcelona, España. 33 p.

Commission for Environmental Cooperation (CEC). 2004. Maize and biodiversity: the effects of transgenic maize in Mexico. Key findings and recommendations. Secretariat article 13 report. http://www.cec.org/Storage/56/4837_Maize-and-Biodiversity_en.pdf. (Consultado en noviembre de 2010)

Christou, P. 2002. No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgressed into traditional Maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Transgenic Research* 11: iii-v.

CONAPO. Índices de Marginación 2005. Puebla. http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/margina2005/anexoB/mapas/b_2106.pdf (Consultado en abril 2011)

Dyer, G. A.; Serratos-Hernández, J. A.; Perales, H. R.; Gepts, P.; Piñeyro-Nelson, A.; Chávez, A.; Salinas-Arreortua, N.; Yúnez-Naude, A.; Taylor, J. E. y Álvarez-Buylla, E. R. 2009. Dispersal of transgenes through maize seed systems in Mexico. *PloS ONE* 4(5): e5734.

Ezcurra, E.; Ortiz, S.; Soberon M., J. 2001. Evidence of gene flow from transgenic maize to local varieties in Mexico. *In: LMOs and the Environment: Proceedings of an International Conference*, OECD, Durham, North Carolina Noviembre 2001, pp. 289–295. <http://www.oecd.org/dataoecd/40/56/31526579.pdf> (Consultado en mayo 2011)

James, C. 2004. Preview: global status of commercialized biotech/GM Crops: 2004. ISAAA Briefs No. 32. ISAAA: Ithaca, NY.

<http://www.isaaa.org/kc/Publications/pdfs/isaaabriefs/Briefs%2032.pdf> (Consultado en abril 2011)

Louette, D. 1995. Intercambio de semillas entre agricultores y flujo genético entre variedades de maíz en sistemas agrícolas tradicionales. Memoria del Foro: Flujo Genético entre Maíz Criollo, Maíz Mejorado y Teocintle: Implicaciones para el Maíz Transgénico. INIFAP-CIMMYT-CNBA. El Batán, Estado de México. pp. 60-71

Matsuoka, Y.; Vigoroux, Y.; Goodman, M. M.; Sánchez G., J.; Buckler, E.; Doebley, J. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. PNAS 99(9):6080-6084.

Mercer, K. L.; Wainwright, J. D. 2008. Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: An analysis. Agriculture, Ecosystems and Environment 129: 109-115

Ortiz-Garcia, S.; Ezcurra, E.; Schoel, B.; Acevedo, F.; Soberón, J.; Show, A. A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico. PNAS 102(35): 12338-12343.

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

Scott, M. P., Pollak, L. M. 2005. Transgenic Maize. DOI 10.1002/star.200400396 Starch/Stärke 57: 187–195

Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. 2000. Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Texto y Anexos. Disponible en: http://bch.cbd.int/protocol/cpb_publications.shtml (Consultado en mayo 2011).

Serratos H., J. A. 2009. Bioseguridad y dispersión de maíz transgénico en México. Ciencias 92 (93):130-141.

Snow, A. 2009. Unwanted Transgenes Re-Discovered in Oaxacan Maize. Molecular Ecology 18:569–571.

Vavilov, N. I. 1930. México y Centroamérica como centro básico de origen de las plantas cultivadas del Nuevo Mundo. *Revista de Geografía Agrícola* 20:15-34 (Trad. de E. Gribovskaia y R. Ortega P.).

**II. FLUJO GÉNICO ENTRE MAÍCES COMERCIALIZADOS POR DICONSA Y
POBLACIONES NATIVAS EN LA MIXTECA POBLANA, MÉXICO***

**GENE FLOW AMONG MAIZE SOLD BY DICONSA AND NATIVE POPULATIONS IN
THE MIXTECA POBLANA, MEXICO**

Nayeli Itzell Carreón-Herrera ⁽¹⁾, Higinio López-Sánchez ^{(1)¶}, Abel Gil-Muñoz ⁽¹⁾, Pedro Antonio López ⁽¹⁾, M. Alejandra Gutiérrez-Espinosa ⁽²⁾, Ernestina Valadez-Moctezuma ⁽³⁾, Juan de Dios Guerrero-Rodríguez ⁽¹⁾ y Enrique Ortiz-Torres ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km.125.5 Carretera Federal México-Puebla, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla, México. C.P. 72760.

⁽²⁾ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera Federal México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México. C.P. 56230.

⁽³⁾ Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Km. 38.5 Carretera Federal México-Texcoco, Chapingo, Texcoco, Edo. de México. México. C.P. 56230.

¶ Autor Responsable: higiniols@colpos.mx

* Enviado a la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas para su posible publicación como artículo científico.

2.1 RESUMEN

Diversos trabajos han anotado que una fuente posible de los transgenes detectados en maíces nativos de México pudo ser el grano proveniente de las tiendas rurales Diconsa (TRD), el cual, al ser sembrado, generó plantas que liberaron polen al ambiente. A la fecha, no se ha realizado trabajo alguno que permita decidir sobre la validez de dicha aseveración. La presente investigación se condujo con el objetivo de precisar si plantas provenientes del grano expendido por las TRD pueden adaptarse a las condiciones de la Mixteca, si llegan a antesis y si esta etapa coincide con la floración femenina de los maíces nativos de dicha región. Para ello, 23 muestras de maíz procedentes de las TRD, 46 poblaciones nativas y tres testigos comerciales fueron evaluados durante 2008 en dos localidades, mediante un diseño látice 8x9 con dos repeticiones. Se registraron variables morfológicas y agronómicas, así como la dinámica de floración. El análisis de los datos con técnicas univariadas y multivariadas reveló que las poblaciones de maíz que se derivaron del grano de maíz de las TRD 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. Todo ello evidencia que en la Mixteca Poblana el flujo génico entre materiales introducidos y poblaciones nativas de maíz es posible, representando un medio efectivo para diseminar transgenes en caso de que estos estén en los granos de polen.

Palabras Clave: *Zea mays* L., maíces nativos, maíz transgénico, dinámica de floración.

2.2 ABSTRACT

Several studies have pointed out that a possible source of the transgenes found in Mexican maize landraces could be the grain sold at the Diconsa rural stores (DRS), that, when planted, resulted in plants that released pollen to the environment. No studies have been done until now to decide over the validity of such statement. This research was carried out with the objective of determining whether the grain sold by the DRS could adapt to the Mixteca conditions, whether it reaches anthesis and whether this stage overlaps with the female flowering of native maize landraces. Thus, a set of 23 grain samples from the DRS, 46 native maize landraces, and three commercial controls were evaluated in 2008 at two localities, using an 8x9 lattice design with two replications. Morphological and agronomical traits, as well as the flowering dynamics, were recorded. Data analysis with univariate and multivariate techniques revealed that the maize landraces derived from grain sold at the DRS represented a group morphologically and agronomically distinct from the native maize landraces; however, their plants reach anthesis, and their flowering periods overlapped with those of native maize landraces. All of this evidences that in the Mixteca Poblana the gene flow among introduced materials and native maize landraces is possible, representing an effective way to disseminate transgenes if they are present in maize pollen grain.

Key Words: *Zea mays* L., maize landraces, transgenic maize, flowering dynamics.

2.3 INTRODUCCIÓN

El reconocimiento inicial de México como centro de origen del maíz fue hecho por Vavilov (Vavilov, 1930); trabajos posteriores, en los cuales se han considerado tanto las evidencias arqueológicas como las botánicas disponibles, han confirmado tal aseveración (Smith, 2001). El hecho de que, adicionalmente, en México existan aproximadamente 60 razas catalogadas, lo convierte también en un centro de diversidad (Kato *et al.*, 2009). Esta diversidad puede percibirse en la gran cantidad de poblaciones nativas, cultivadas primordialmente por agricultores minifundistas, en las áreas temporaleras del país. Trabajos como el de Muñoz (Muñoz, 2005) permiten tener una mejor idea de la magnitud de esta diversidad. La posibilidad de que este amplio acervo genético pueda verse afectado en alguna forma por el flujo génico de maíces genéticamente modificados a las poblaciones nativas de maíz, se ha constituido en un tema de vital importancia para amplios sectores académicos y de la sociedad, como lo evidenció el Informe del Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental (2004). Otros motivos de preocupación son las posibles implicaciones en términos de beneficios y riesgos para los humanos y el ambiente, los derechos de propiedad intelectual y la estructura socioeconómica de la agricultura (Soleri *et al.*, 2005).

Mercer y Wainwright (2008) reportan que en México se han conducido al menos 10 estudios para detectar la presencia de transgenes, pero que no en todos los casos se publicaron los resultados. Agregan que en aquellos trabajos disponibles donde se encontraron transgenes, estos estuvieron presentes en niveles bajos o indetectables. Entre los Estados donde se detectaron figuraron Oaxaca y Puebla. Serratos (2009) anota que es difícil explicar cómo se introdujo el maíz transgénico a México, y lista las hipótesis que se han adelantado: 1) la siembra de grano transgénico proveniente de importaciones; 2) el contrabando o la introducción ilegal de semillas;

3) programas oficiales de semilla, sin supervisión; 4) redes comerciales de semilla en pequeña escala; 5) mala supervisión de las pruebas de campo realizadas en el país. Respecto a la primera hipótesis, Soleri *et al.* (2006) exponen que desde la implementación del Tratado de Libre Comercio con América del Norte, México ha importado de Estados Unidos, un promedio anual de 5.45 millones de toneladas métricas de maíz, que entre los años 2000 y 2003 incluyeron aproximadamente 500 billones de granos de maíz Bt blanco para alimento. Agregan que en entrevistas con agricultores de cuatro comunidades oaxaqueñas, un 23 % (39 de 169) de aquellos que obtuvieron maíz externo para comer, también sembraron una parte, y que 8 % (13 de 169) habían sembrado maíz de las tiendas gubernamentales; el 100 % de estos últimos dijo que el grano había producido polen. En un trabajo conducido a nivel nacional, Dyer *et al.* (2009) encontraron que entre 1997 y 2001, casi un 3 % de los agricultores mexicanos contactados (1765), sembró maíz obtenido de Diconsa (la red pública minorista) al menos una vez durante el período mencionado, aunque solamente el 0.5 % de los lotes de semilla sembrados en 2002 provino de tal fuente.

La Mixteca Poblana se ubica en la porción suroeste del Estado de Puebla, integra a 57 municipios y ocupa una superficie total de 8,021 km². La precipitación media anual en la región es de 600 mm y los suelos son de origen calcáreo y poco profundos, predominando los cambisoles (De la Rosa *et al.*, 2006). Muñoz (2005) consigna que en esta región la sequía es el problema más grave, y que es resultado de las lluvias escasas y variables (el coeficiente de variación llega a superar el 50 %) y de los suelos someros y pedregosos que retienen poca agua. Ello ocasiona que los rendimientos de maíz sean bajos, como lo evidencia el rendimiento promedio de tal cultivo bajo temporal en el Distrito de Desarrollo Rural de Izúcar, que entre 2006 y 2009 fue de 740 kg·ha⁻¹, y siempre existe la posibilidad de siniestros, como ocurrió en el

año 2005, en el cual 38 % de los municipios del DDR sufrió pérdidas totales (SIAP, 2010), lo cual ocasiona la pérdida de las variedades cultivadas y obliga a la búsqueda de otras semillas para siembra.

Considerando que existen evidencias de que los agricultores llegan a adquirir maíz expendido por tiendas oficiales como Diconsa, que es posible que lleguen a sembrarlo, que tal posibilidad aumenta bajo ambientes restrictivos, como el de la Mixteca Poblana, y que al momento no ha habido trabajo experimental alguno que determine la posibilidad de flujo génico entre plantas provenientes de grano de tiendas Diconsa y plantas de variedades nativas de maíz, se planteó la presente investigación con el objetivo de determinar si plantas provenientes de grano de tiendas Diconsa pueden adaptarse al ambiente de cultivo de la Mixteca Poblana, si llegan a antesis y si esta etapa podría coincidir con la floración de los maíces nativos cultivados en la región. Los resultados podrán permitir el proponer a los granos de Diconsa como fuente, o no, de diseminación de transgenes a las variedades nativas de la Mixteca.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Acopio de grano y semilla

El acopio de muestras se realizó durante el año 2008, y se organizó de tal forma que se procuró muestrear el área en la cual se encontraban ubicadas tiendas de los dos principales almacenes de Diconsa en la Mixteca Poblana: San Bernardo Acatlán y Tecomatlán. Así, y con base en el padrón de tiendas (DICONSA, 2011), se identificaron las poblaciones en las cuales se localizaban aquellas, se visitó la comunidad para verificar que la tienda estuviera funcionando y, si esta existía, se preguntó si vendían o habían vendido maíz en grano en los últimos tres años (2006 a 2008). En donde procedió, se compró una muestra del maíz vendido en la tienda y,

adicionalmente, se procuró recolectar muestras de maíz con tres productores distintos de la misma localidad. De esta manera, el acopio de muestras se realizó en 27 localidades distribuidas en 13 municipios de la Mixteca Poblana (Cuadro 1 y Figura 1).

- MUNICIPIOS
1. Cuayuca de Andrade
 2. Tehuizingo
 3. Axutla
 4. Piaxtla
 5. Guadalupe
 6. San Pablo Anicano
 7. San Pedro Yeloixtlahuaca
 8. Petlalcingo
 9. San Jerónimo Xayacatlán
 10. Acatlán
 11. Xayacatlán de Bravo
 12. Ahuehuetitla

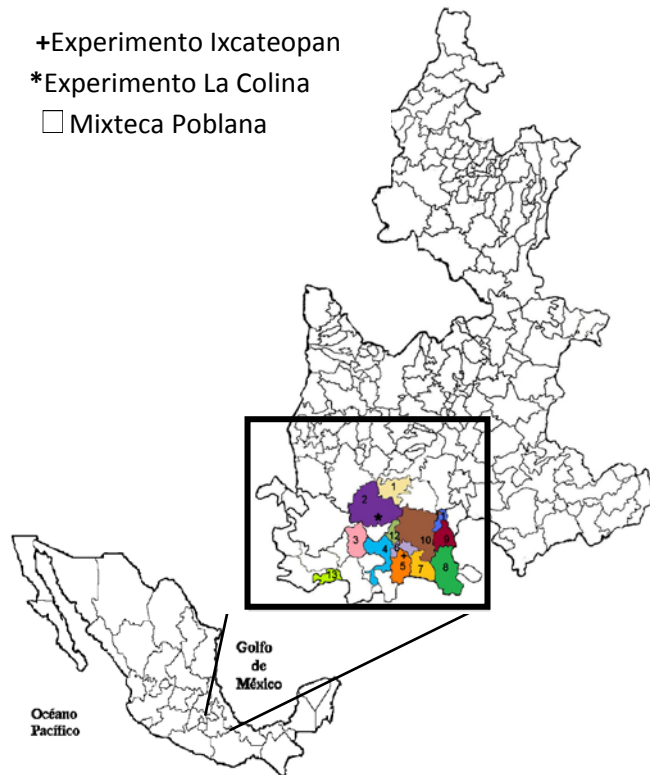


Figura 1. Ubicación de los municipios de colecta y de los experimentos en campo. Mixteca Poblana, Puebla, México, 2008.

En total se obtuvieron 178 muestras; 27 pertenecientes a tiendas y el resto a productores. Para fines de evaluación en campo, se escogieron 23 muestras provenientes de tiendas Diconsa (todas de grano blanco) y 46 de los agricultores (Cuadro 1), que representaran la gama de procedencias y colores recolectados. De estas últimas, 34 fueron de grano blanco, seis de grano azul, tres amarillas y tres rojas.

2.4.2 Evaluación experimental

Para los experimentos en campo, aparte de las 69 muestras anteriormente descritas, se incluyeron tres testigos (Chiautla, CPV-M301, SB-302) los cuales representan variedades mejoradas recomendadas para la región. De esta forma, se tuvo un conjunto de 72 materiales, los cuales se evaluaron en 2 localidades, 2 repeticiones, en un diseño experimental látice 8x9. La unidad experimental estuvo constituida por dos surcos de cinco metros de largo por ochenta centímetros de ancho. Las matas se espaciaron a 50 cm y en cada una se depositaron tres semillas para posteriormente aclarar a dos plantas por mata.

Los sitios de evaluación fueron: La Colina, Municipio de Tehuiztzingo (18° 20' LN, 98° 16' LO y 1060 msnm) e Ixcateopan, Municipio de Guadalupe (18° 05' LN, 98° 07' LO y 1100 msnm), ambos en el Estado de Puebla (INEGI, 2011). Las fechas de siembra fueron el 18 y 19 de mayo de 2008, respectivamente; los dos experimentos se desarrollaron en condiciones de temporal estricto. Se fertilizó con la fórmula 120-60-00, la cual se aplicó completa en la primera labor. En el experimento de La Colina, por persistencia de síntomas de deficiencia nutrimental, fue necesario realizar una aplicación de fertilizante foliar (Nitrofoska®) a los 112 días después de la siembra. El control de malezas fue manual.

2.4.3 Variables registradas

Durante el desarrollo de los experimentos, en plantas de cada unidad experimental se midieron los siguientes conjuntos de variables:

Variables agronómicas relacionadas con establecimiento: número de matas por parcela, contabilizadas un mes después de la siembra (antes del aclareo); y número de plantas por parcela, cuantificadas a los 80 días después de siembra (dds) y al momento de la cosecha (187 dds).

VARIABLES VEGETATIVAS: altura de planta (en centímetros, desde el nivel del suelo hasta la base de la espiga), registrada a los 107 y 187 dds.

VARIABLES AGRONÓMICAS A LA COSECHA: número de plantas con dos o más mazorcas; número de plantas 'jorras'; calificación visual de planta, acame y mazorca (todas en una escala de 1 a 5, donde 1 representa mejor aspecto y 5 peor aspecto); número de mazorcas cosechadas y rendimiento de grano (corregido por el factor de desgrane y ajustado a un contenido de humedad del 14 %) y ausencia/presencia de plantas con senescencia foliar retardada "staygreen" por parcela (cero: ausencia; uno: presencia).

COMPONENTES DE RENDIMIENTO: en cada una de cinco mazorcas muestreadas por parcela, se midió con un vernier, en centímetros, el diámetro de mazorca y de olote (ambos en la parte media) y la longitud de mazorca (de la base al ápice); también se contabilizaron el número de hileras por mazorca, el número de granos por hilera (en tres hileras representativas) y, en un conjunto de 12 granos de la parte media de la mazorca, se registraron, en milímetros, las dimensiones del grano (largo, ancho y espesor). Adicionalmente, se calcularon diferentes índices: longitud por diámetro de mazorca (IDLYDM), diámetro de mazorca por número de hileras (IDMYNH), longitud por ancho de grano (ILAGr), longitud por grosor de grano (ILEGr), y ancho por grosor de grano (IAEGr).

Cuadro 1. Relación de muestras incluidas en los experimentos de campo. Mixteca Poblana, 2008.

Muestra	Localidad	Municipio	Muestra	Localidad	Municipio
De Agricultores			VHG	Vista Hermosa	Guadalupe
Aht1, Aht2	Ahuehuetitla	Ahuehuetitla	XacB1, XacB2	Xayacatlán de Bravo	Xayacatlán de Bravo
Aht3, Aht4	Ahuehuetitla	Ahuehuetitla	Yet	Yetla	Piactla
Atop1, Atop2	Atopolitlán	Tehuiztingo	De Diconsa		
Axu1, Axu2	Axutla	Axutla	DiAtop‡	Atopolitlán	Tehuiztingo
AZ1, AZ2, AZ3	Albino Zertuche	Albino Zertuche	DiAxu‡	Axutla	Axutla
BG1, BG2	Barrio de Guadalupe	Acatlán	DiBG‡	Barrio de Guadalupe	Acatlán
Boq	Boqueroncito	Tehuiztingo	DiEP‡	El Progreso	Piactla
BSJ	Barrio S. P. Jerónimo	S. J. Xacayatlán	DiPI‡	Guadalupe Allende	Tehuiztingo
ChF	Chila de las Flores	Chila	DiHG‡	Hermenegildo Galeana	Acatlán
DC1, DC2, DC2	Débora Carrizal	Cuayuca de Andrade	DiSJT‡	San José Tetla	Piactla
HG1, HG2	Hermenegildo Galeana	Acatlán	DiLNC‡	La Noria Chica	Acatlán
LNH1	La Noria Hidalgo	Tehuiztingo	DiLNH2‡	La Noria Hidalgo	Tehuiztingo
LP1, LP2	La Providencia	Guadalupe	DiLP‡	La Providencia	Guadalupe
Mix	Mixquitepec	Guadalupe	DiMix‡	Mixquitepec	Guadalupe
PI	Guadalupe Allende	Tehuiztingo	DiNH‡	Nuevos Horizontes	Acatlán
Prog1, Prog2	El Progreso	Piactla	DiSB‡	San Bernardo	Acatlán
SB	San Bernardo	Acatlán	DiSIL‡	San Isidro Labrador	S. P. Yeloixtlahuaca
SCT	Santa Cruz Tejalpa	Tehuiztingo	DiSJLG‡	San Juan Llano Grande	S. P. Yeloixtlahuaca
SIL	San Isidro Labrador	S. P. Yeloixtlahuaca	DiSPA‡	San Pablo Anicano	San Pablo Anicano
SJTet	San José Tetla	Piactla	DiSPC‡	San Pedro Cuayuca	Cuayuca de Andrade
SPC1, SPC2	San Pedro Cuayuca	Cuayuca de Andrade	DiSRLP‡	San Rafael La Paz	Guadalupe
SRLP1, SRLP2	San Rafael La Paz	Guadalupe	DiSCO‡	Santa Cruz Organal	Cuayuca de Andrade
Tecol1, Tecol2,	Tecolutla	Tehuiztingo	DiSCT‡	Santa Cruz Tejalpa	Tehuiztingo
Tecol3	Tecolutla	Tehuiztingo	DiTlac‡	Tlacotepec	Cuayuca de Andrade
Tep1, Tep2	Tepejillo	Petlalcingo	DiVH‡	Vista Hermosa	Guadalupe
Tlach	Tlachinola	Tehuiztingo	DiYet‡	Yetla	Piactla

2.4.4 Análisis estadístico

Las variables previamente descritas fueron sometidas a un análisis de varianza combinado (Steel y Torrie, 1986); también se incluyó un contraste para comparar el conjunto de poblaciones nativas contra el de las introducidas (muestras obtenidas en las tiendas). Con aquellas variables en las cuales se detectó significancia estadística, se condujo un análisis de correlación simple, para seleccionar una de cada par que resultara alta ($r > 0.7$) y significativamente ($p > 0.05$) correlacionado, a fin de integrar la base de datos a emplear en un posterior análisis multivariado.

El conjunto de variables que constituyó la matriz empleada en los análisis multivariados quedó integrado por: matas por parcela, altura de planta a los 187 dds, días al 50 % de floración femenina, asincronía floral, plantas jorras, presencia de androesterilidad, presencia de senescencia retardada, calificación de acame, diámetros de mazorca y olote, granos por hilera, ancho de grano, y los índices longitud por diámetro de mazorca, diámetro de mazorca por número de hileras, longitud por ancho de grano, longitud por grosor de grano, y ancho por grosor de grano. Las técnicas aplicadas a este conjunto de datos fueron el análisis de componentes principales (Pla, 1986) y el de conglomerados (Mohammadi y Prasanna, 2003). En este último, para generar el dendrograma, se empleó el método UPGMA. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa Statistical Analysis System (SAS, 2002-2003).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se concentran los resultados del análisis de varianza combinado para aquellas variables en las cuales hubo diferencias estadísticamente significativas entre variedades. Se observa que entre localidades hubo significancia estadística en 15 de las 23 variables incluidas, evidenciando con ello que la expresión promedio de tales características de planta a nivel

localidad varió de un sitio a otro. No obstante lo anterior, la interacción ‘localidades x tratamientos’ resultó estadísticamente significativa solo para dos variables (altura de planta a la cosecha y días al 50 % de floración masculina), por lo que se infiere que el nivel de expresión de las variedades, en los diferentes atributos medidos, fue constante a través de los ambientes de evaluación. Dado que el análisis detectó diferencias estadísticas entre variedades, se procedió a evaluar un contraste que comparara el comportamiento promedio del conjunto de poblaciones nativas contra el de los materiales procedentes de las tiendas Diconsa (Contraste ‘Nativos vs. Introducidos’); los resultados mostraron que en todos los casos aquél fue estadísticamente significativo.

Al revisar los conteos de plantas (Cuadro 3) se notó que los materiales introducidos (MI) no tuvieron buen establecimiento, pues a los 80 dds apenas alcanzaron un 53 % del número de individuos en las poblaciones nativas (PN), valor que prácticamente se mantuvo hasta la cosecha (51 %). En cuanto a los atributos de planta, los MI resultaron ser de menor porte, ligeramente más tardíos pero con menor asincronía floral y menos susceptibles al acame que las PN. Esta última característica pudiera ser atractiva para los agricultores, pues se ha reportado como uno de los atributos que les gustaría mejorar (Bellon, 2002). La proporción de plantas jorras se mantuvo similar entre PN y MI (24-25 %). La mazorca de los MI fue más angosta que la de las PN y con olote más grueso, lo que ocasionó que el grano de las primeras fuera más corto. No obstante lo anterior, las mazorcas de los MI presentaron un mayor número de hileras y de granos por hilera, aunque estos fueron más angostos (Cuadro 3).

Cuadro 2. Análisis de varianza combinado para las variables medidas en los experimentos establecidos en la Mixteca Poblana, 2008.

Variable†	Cuadrados Medios					
	Localidad	Tratamiento	Contraste 'Nativos vs Introducidos'	Interacción Loc x Trat	Error	CV
Matas por parcela	47.53 ns	41.91**	1959.42**	8.47 ns	7.53	14.7
Plantas a 80 dds	5.01 ns	579.20**	30915.14**	69.90 ns	70.27	20.5
Plantas a 187 dds	1475.62**	405.81**	21356.75**	95.53 ns	66.85	25.3
Alt. planta a 107 dds	198249.15**	1356.03**	72518.27**	540.76**	271.59	17.2
Alt. planta a 187 dds	710.28 ns	4164.70**	236812.47**	398.06 ns	391.06	11.1
Floración masculina	1281.32**	41.85**	1274.15**	12.24 *	6.80	3.9
Floración femenina	972.90**	39.96**	407.32**	8.93 ns	9.59	4.5
Asincronía floral	0.00 ns	9.64**	102.61**	0.03 ns	1.97	51.4
Plantas jorras	2973.45**	54.05 *	1637.05**	31.66 ns	23.63	58.9
Androesterilidad	0.00 ns	0.26**	11.30**	0.007 ns	0.10	203.4
Senescencia retardada	0.00 ns	0.44**	1.32*	0.010 ns	0.14	145.7
Calificación de acame	96.29**	0.69**	27.52**	0.31 ns	0.23	19.9
Diámetro de mazorca	549.55**	28.85**	547.65**	12.93 ns	11.54	8.2
Diámetro de olote	42.43 *	29.41**	125.93**	4.22 ns	3.56	8.2
Hileras por mazorca	54.71**	11.48**	442.61**	1.16 ns	0.91	8.2
Granos por hilera	730.72**	26.97 *	165.66**	17.64 ns	14.18	13.6
Ancho de grano	14.26**	3.32**	106.30**	0.51 ns	0.48	7.7
Longitud de grano	274.45**	10.47**	370.75**	1.98 ns	1.87	11.7
IDLYDM	3.92**	0.30 *	2.98**	0.15 ns	0.11	11.2
IDMYNH	0.00 ns	0.00**	0.47**	0.0007 ns	0.0007	9.6
ILAGr	1.68**	0.14**	0.62**	0.02 ns	0.022	11.5
ILEGr	14.93**	1.38**	44.59**	0.35 ns	0.27	16.9
IAEGr	0.39 ns	0.40**	15.55**	0.12 ns	0.10	13.9

† Los Grados de Libertad (GL) para Localidades, Tratamientos, Contraste e Interacción y Error fueron: 1, 71, 1, 71 para todas las variables. Los GL del Error para matas por parcela, plantas a 80 dds, altura de planta a 187 dds, asincronía, androesterilidad y senescencia retardada, fueron 142; para plantas y altura de planta a 187 dds, días al 50 % floración masculina y plantas jorras, fueron 141; para días al 50 % floración femenina y calificación de acame, fueron 140, y para las últimas 11 variables, fueron 139.

Los mejores niveles de expresión de los maíces nativos respecto a los introducidos es un aspecto que ya ha sido consignado en trabajos como el de Gil *et al.* (2004) y el de Ángeles-Gaspar *et al.* (2010), quienes concluyen que al ser evaluados conjuntamente y bajo condiciones de temporal, las poblaciones nativas comúnmente sobrepasan los niveles de expresión de los materiales

testigo (mejorados o introducidos). La valoración que se hizo de la ausencia o presencia de plantas androestériles y de senescencia foliar retardada indicó que en algunos MI hubo cuando menos una planta con alguna de estas características, y que ambas fueron más frecuentes en los MI que en las PN, sugiriendo con ello que los primeros no son materiales pertenecientes a la región Mixteca.

Cuadro 3. Valores promedio de diferentes variables medidas en el conjunto de poblaciones nativas (PN) de maíz y en el de materiales obtenidos en tiendas Diconsa (MI). Mixteca Poblana, 2008.

VARIABLE	PN	MI	VARIABLE	PN	MI
Matas por parcela	20.51	14.89	Diámetro de mazorca	42.41	39.42
Plantas a 80 dds	48.17	25.72	Diámetro de olote	22.34	23.81
Plantas a 187 dds	38.35	19.65	Hileras por mazorca	10.72	13.44
Alt. planta a 107 dds	107.31	72.93	Granos por hilera	28.10	26.61
Alt. planta a 187 dds	198.00	135.69	Ancho de grano	9.46	8.14
Floración masculina	65.07	69.70	Longitud de grano	12.57	10.13
Floración femenina	68.71	70.87	IDLYDM	2.95	3.19
Asincronía floral (días)	3.12	1.83	IDMYNH	0.25	0.34
Plantas jorras	9.87	4.68	ILAGr	1.34	1.25
Androesterilidad	0.02	0.45	ILEGr	3.38	2.54
Senescencia foliar retardada	0.21	0.36	IAEGr	2.54	2.03
Calificación de acame	2.65	1.99			

El análisis de componentes principales mostró que con los tres primeros se explicó un 65 % de la variabilidad total. Dado que los dos primeros (MZ1 y MZ2) concentraron una mayor capacidad de explicación (41 y 13 %, respectivamente), se procedió a identificar las variables originales más importantes para ellos y a graficar la distribución de los materiales bajo estudio con base en tales componentes, generándose así la Figura 2.

Las variables que contribuyeron en mayor medida al componente MZ1 fueron matas por parcela, altura de planta a la cosecha, calificación de acame y el índice ancho/espesor de grano (todos correlacionados positivamente con MZ1, y el índice diámetro de mazorca/número de hileras (relacionado negativamente); para el componente MZ2, las variables relevantes fueron: diámetro de olote, ancho de grano (relación positiva) y los índices longitud/ancho de grano y longitud/espesor de grano (relación negativa).

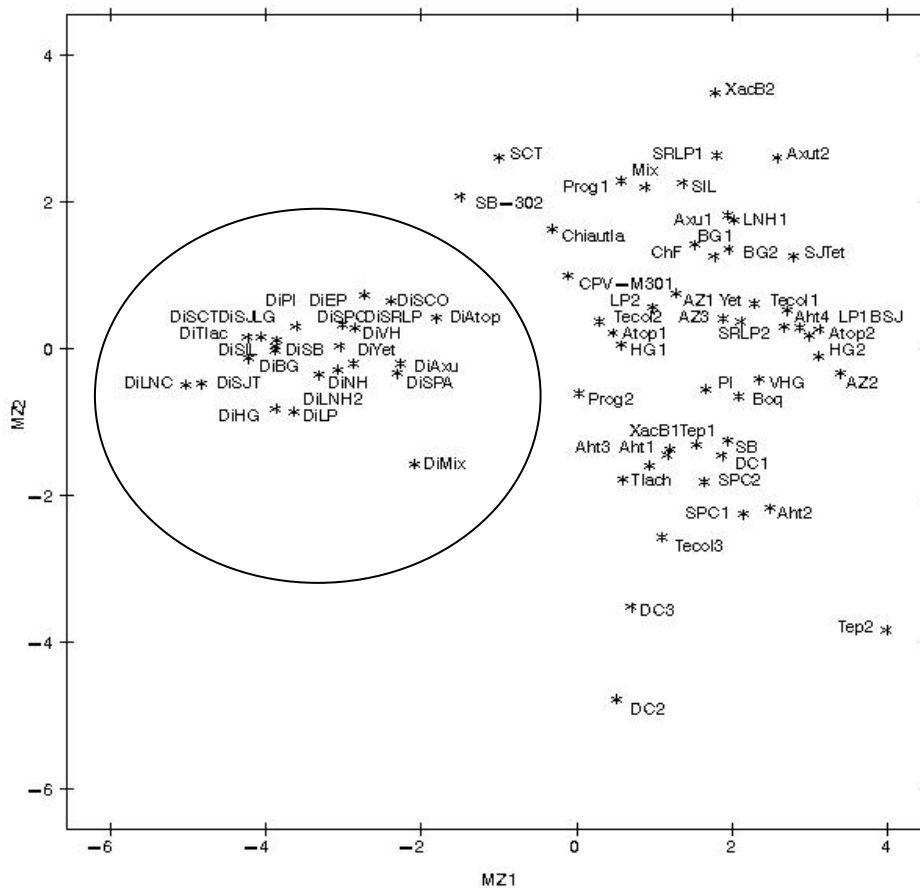


Figura 2. Distribución de los 72 materiales de maíz en estudio, de acuerdo con los valores propios del primer y segundo componente principal. Mixteca Poblana, 2008.

Al graficar, un aspecto que inmediatamente llamó la atención fue el que todos los materiales introducidos quedaron englobados en un grupo muy bien definido (delimitado por una elipse en la Figura 2), el cual no guardó relación alguna con las poblaciones nativas de maíz de la Mixteca

Poblana. La mayor diferenciación de este grupo la dio el componente MZ1, de donde se deduce que tendió a presentar pocas matas por parcela, plantas de porte bajo, con mayor resistencia al acame y mazorcas con granos más gruesos que anchos y con mayor número de hileras para un mismo diámetro de mazorca. Los elementos anteriores refuerzan la separación encontrada por medio de los contrastes en términos de características morfológicas y agronómicas, y demuestra que las variedades provenientes de las tiendas Diconsa son materiales totalmente externos a la región Mixteca. Las poblaciones testigo 'Chiautla' y 'CPVM-301' quedaron incluidas dentro del conjunto de poblaciones nativas; el híbrido SB-302, al ser un material introducido, mostró poca cercanía con los materiales locales.

En la figura 3 se presenta el dendrograma resultado del análisis de conglomerados. En él se observa la presencia de dos grupos claramente definidos, el primero y más numeroso, que incluye a todas las poblaciones nativas (y a los materiales testigo), y el segundo, formado exclusivamente por los materiales provenientes de las tiendas Diconsa, situación que pone de manifiesto el hecho de que las plantas provenientes del grano de maíces introducidos constituyen un conjunto que, morfológica y agronómicamente, está escasamente relacionado con las poblaciones nativas.

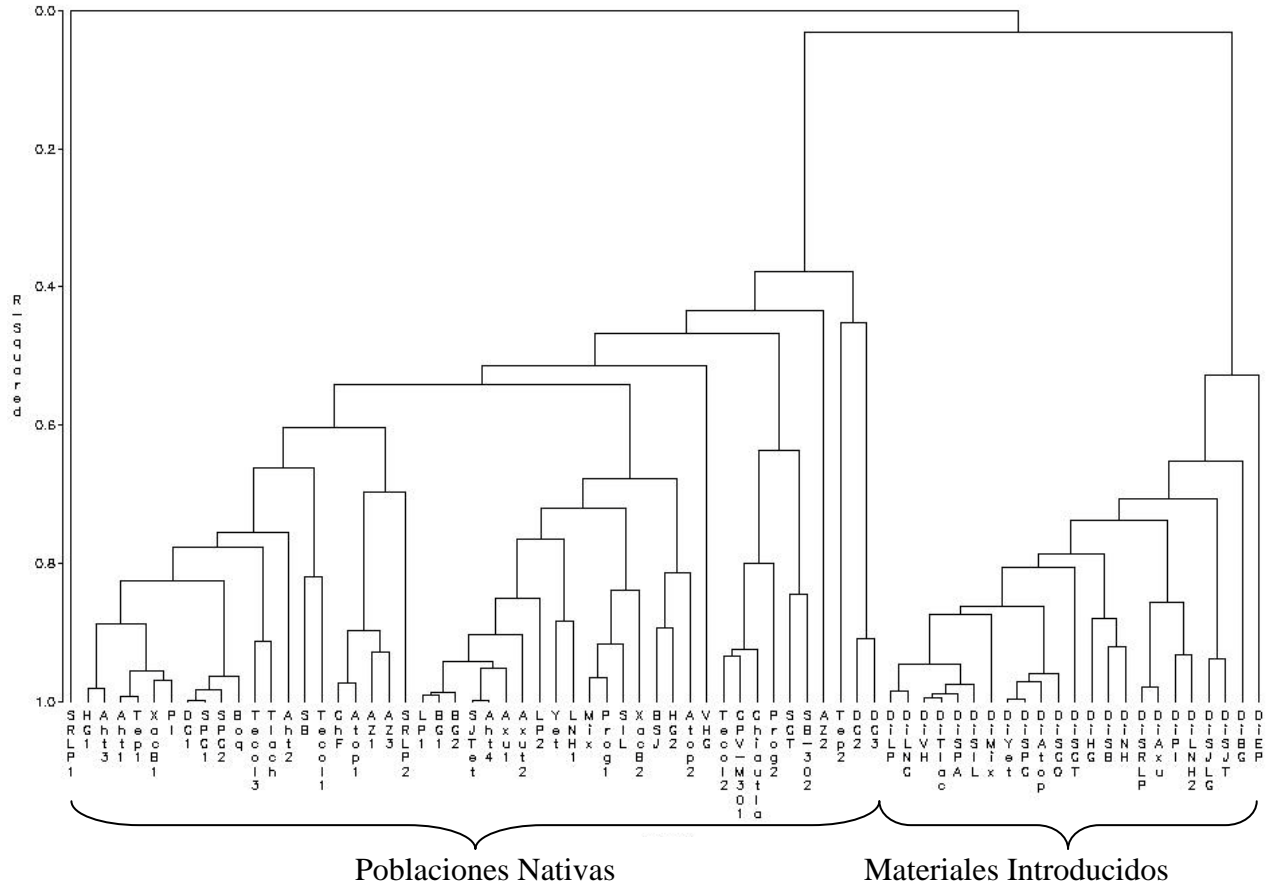


Figura 3. Dendrograma de los 72 materiales de maíz estudiados en la Mixteca Poblana, 2008.

Aun cuando los análisis de varianza y multivariados evidenciaron que, tanto a nivel de grupo como de poblaciones individuales, los materiales introducidos (los obtenidos de las tiendas Diconsa) y las poblaciones nativas resultaron ser conjuntos bastante distintos entre sí, quedaba por responder la pregunta de si, a pesar de tales diferencias, existía la posibilidad de que hubiera traslape de floraciones entre ambos conjuntos de materiales, dado que las plantas de ambos grupos llegaron a producir polen (antesis). Tal pregunta es relevante dado que se ha señalado que el grano expendido por las tiendas Diconsa pudo haber sido una fuente de transgenes vía la

dispersión de polen procedente de plantas desarrolladas a partir de dicho grano (Dyer *et al.*, 2009). Para responder a tal interrogante, se procedió a graficar la dinámica de floración de materiales introducidos y de poblaciones nativas representativas de los diferentes estratos de precocidad detectados (Figura 4).

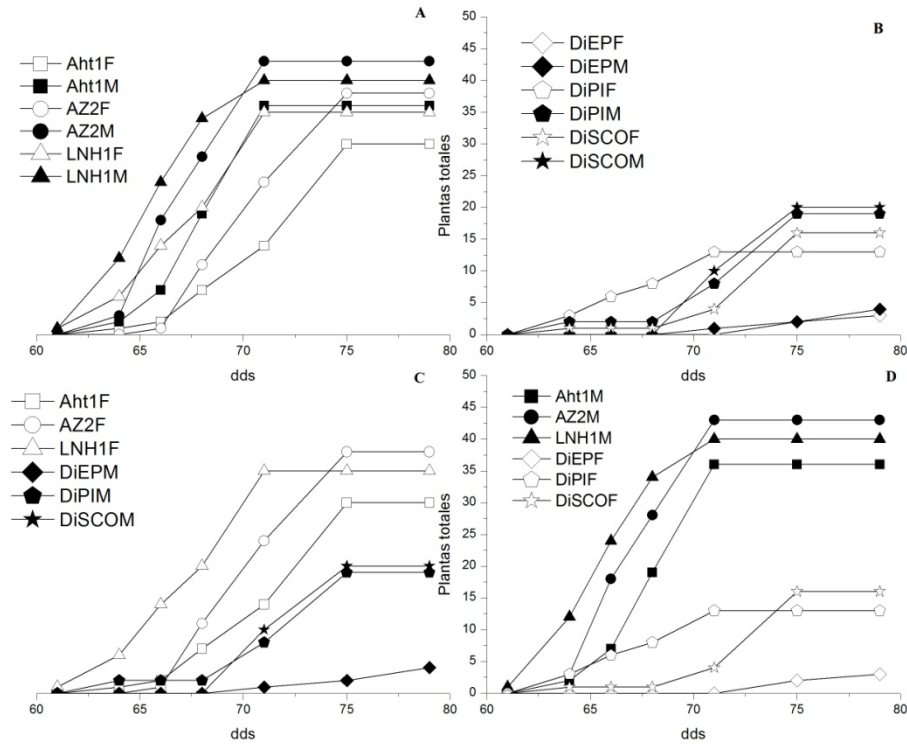


Figura 4. Dinámica de floración masculina (M) y femenina (F) en días después de la siembra (dds), para poblaciones nativas y materiales introducidos de maíz, Mixteca Poblana, 2008. 4A. Poblaciones nativas: precoz (Aht1), intermedia (AZ2) y tardía (LNH1); 4B. Materiales introducidos: precoz (DiEPF, intermedia (DiSCO) y tardía (DiPI); 4C. Floración femenina de poblaciones nativas y masculina de materiales introducidos; 4D. Floración masculina de poblaciones nativas y floración femenina de materiales introducidos.

En la Figura 4A se observan las dinámicas de floración de tres poblaciones nativas (PN), que representan a materiales precoces, intermedios y tardíos, respectivamente. Se nota que aun cuando se presentó cierto desfase entre las floraciones masculina y femenina, en los tres casos hubo polen disponible para polinizar los jilotes que tenían estigmas expuestos. En los materiales introducidos (MI) también se identificaron poblaciones para cada nivel de precocidad (Figura 4B), y aun cuando también se presentó asincronía floral, esta fue menor que en el caso de las PN; de hecho, en un MN (DiPI), se observó protoginia durante las primeras lecturas. Al realizar la comparación entre las dinámicas de floración femenina de las PN y de floración masculina de los MI (Figura 4C) se observa que estos últimos tuvieron plantas en antesis durante prácticamente todo el período en el cual hubo exposición de estigmas en las PN, excepto en el inicio de floración de las poblaciones nativas más precoces (aunque sí en la parte media y final de la floración femenina de este grupo). El traslape fue más notorio poco después de los 70 dds. Cabe mencionar que aun cuando el número de plantas en antesis fue menor que el de plantas con estigmas receptivos, y que algunas de las plantas pudieron ser androestériles, la presencia de unas cuantas espigas dehiscentes es suficiente para que se dé la polinización, pues una espiga llega a liberar 25,000 granos de polen (Hallauer, 1987). Lo antes expuesto sugiere que la posibilidad de cruzamiento entre MI y PN, donde las primeras actúan como donantes de polen, existe. La representación inversa (Figura 4D) muestra que hubo inflorescencias femeninas de los MI con estigmas expuestos durante el periodo de antesis de las PN, por lo que el cruzamiento recíproco también fue factible.

Della Porta *et al.* (2008) condujeron una serie de estudios para determinar, entre otros factores, el efecto de la fecha de floración en el flujo génico en maíz. Concluyeron que si la diferencia en floración entre la fuente de polen y los estigmas de la población receptora era de hasta 3 días, la

reducción en el flujo de polen era poca o nula; que cuando el intervalo de tiempo era de 4 a 5 días, el flujo de polen se reducía en 25 %; que cuando el intervalo fue de 6 días, la reducción llegaba al 50 %, alcanzando niveles cercanos a cero cuando la diferencia fue mayor de 7 días. Aun cuando los autores no lo mencionan, se asume que hacen referencia a los días al 50 % de floración. En el presente trabajo, las diferencias en floración media entre poblaciones nativas (PN) y materiales introducidos (MI) abarcaron todo el espectro mencionado por Della Porta *et al.* (2008): hubo casos en los que las diferencias entre floraciones masculina de los MI y femenina de las PN fueron mayores a siete días, hasta aquellos en que la diferencia fue nula, por lo que considerando solamente floración media, se ratifica la posibilidad de flujo génico. Tal posibilidad se incrementa al considerar todo el período de floración. Un aspecto que conviene resaltar es que el traslape fue mínimo en el caso de las PN precoces; al respecto, Della Porta *et al.* (2008) comentan que este tipo de materiales (los precoces) son más eficientes en términos de contención del flujo génico, debido a que probablemente pueden saturar los estigmas receptivos con su mismo polen, antes de que floree la población fuente.

De acuerdo con Bellon y Berthaud (2006), los agricultores mexicanos comúnmente adquieren semillas de otros agricultores o fuentes dentro o fuera de la comunidad: Apuntan que hay varias razones para el flujo de semilla: a) la pérdida de semilla por plagas, enfermedades, sequías, heladas y otros problemas, situación que se torna más crítica a medida que disminuye la superficie cultivable de la que disponen; b) el gusto por experimentar, que lleva a plantar pequeñas cantidades de semilla foránea para valorar su desempeño bajo diversas condiciones y manejo; c) La creencia de que la semilla debe cambiarse con regularidad para que mantenga su productividad. De estos tres factores, los dos primeros son aplicables al caso de los agricultores de la Mixteca Poblana, pues debido a las restricciones ambientales (particularmente sequías), la

pérdida total de la cosecha de maíz suele presentarse, lo que conlleva a la necesidad de conseguir semilla localmente y, en casos extremos, a plantar la que se pueda obtener, conjugando en ello el interés por valorar si la semilla en cuestión puede adaptarse en sus terrenos.

En el caso de especies invasoras, el flujo de semillas es el primer paso en la invasión de genes, seguido por el flujo de polen, la hibridación y la introgresión. Al proceso completo se le denomina flujo genético, y depende de variables tales como la tasa de flujo de semilla y polen y la adaptación relativa y absoluta de los híbridos (Soleri y Cleveland, 2006). Este esquema es aplicable al caso del maíz transgénico.

Los resultados aquí expuestos muestran que, en el caso de la Mixteca Poblana, el grano de maíz obtenido en las tiendas rurales de la región da origen a plantas viables, que aun cuando tienen problemas de establecimiento, son capaces de llegar a la etapa reproductiva, y de desarrollar espigas dehiscentes y jilotes receptivos. Adicionalmente, tales materiales también exhiben variación en sus ciclos vitales, lo que permite que las posibilidades de traslape con los períodos de floración de las poblaciones nativas se incrementen notablemente. En este sentido, es conveniente resaltar el hecho de que el flujo de genes puede darse de manera bidireccional: de espigas de materiales introducidos (MI) a jilotes de poblaciones nativas (PN) y viceversa, lo que da como resultado la existencia de dos tipos de mazorcas, aquellas de PN con información genética de MI y otras de MI con genes de PN. Normalmente, cuando se ha hablado de flujo genético en el caso de maíz (y referido a los transgénicos), se ha dado mayor atención al flujo de polen que resulta en el primer tipo de mazorcas, pero no al segundo, el cual también es importante, pues está demostrado que si el agricultor, al utilizar materiales introducidos, encuentra alguno que genere mazorcas con un fenotipo que él considere apto, las seleccionará y las comenzará a “acriollar”. Al respecto, Bellon y Berthaud (2006) han escrito que el proceso de

‘acriollamiento’ no se restringe a las variedades mejoradas, sino que también se aplica a poblaciones de maíz ‘introducidas’ que son de interés para el agricultor. Los datos del presente trabajo permiten inferir que existieron plantas y mazorcas que fenotípicamente pueden ser susceptibles de selección por los agricultores.

Para finalizar, es conveniente citar el trabajo de Acatzi *et al.* (2008), quienes condujeron un estudio para detectar y cuantificar la presencia de maíz transgénico en las importaciones mexicanas realizadas a través de ocho puertos de entrada al país, entre los meses de julio y septiembre de 2007. Utilizando tiras reactivas y placas de ELISA, y apoyados en reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, hicieron una búsqueda de eventos transgénicos tanto de variedades autorizadas como de otras que no habían sido remitidas para autorización en México. Encontraron maíz transgénico en todos los puertos de entrada, en cantidades tan altas como 80 %. Si este tipo de maíz sigue ingresando a México, debe haber motivos de preocupación, pues como se evidenció en el presente estudio, la posibilidad de flujo génico (o transgénico) entre materiales introducidos y poblaciones nativas de maíz es real.

2.6 CONCLUSIONES

Los granos de maíz obtenidos de las tiendas Diconsa de La Mixteca Poblana fueron capaces de originar plantas viables y de alcanzar las etapas de floración y madurez de cosecha bajo las condiciones ambientales de la región mencionada.

Las poblaciones de plantas derivadas del grano de maíz obtenido en las tiendas Diconsa constituyeron un conjunto diferenciable morfológica y agrónomicamente de las poblaciones nativas cultivadas en La Mixteca Poblana; no obstante, las primeras llegaron a la producción de polen.

Hubo traslape entre los períodos de floración de los materiales introducidos y las poblaciones nativas de maíz, por lo que la posibilidad de flujo génico entre ambos conjuntos de poblaciones existe.

El flujo génico entre materiales introducidos y poblaciones nativas puede ocurrir de dos formas: vía inflorescencias femeninas de poblaciones nativas fecundadas por polen de materiales introducidos, o vía flores femeninas de materiales introducidos polinizados por polen de poblaciones nativas. En ambos casos se tendrán mazorcas con presencia de genes foráneos.

2.7 AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, por el apoyo económico brindado para la conducción de este proyecto, a través de la Línea Prioritaria de Investigación 6: Conservación y Mejoramiento de Recursos Genéticos.

A los señores Benigno Cardoso Martínez y Jesús Flores y al M.C. Alejandro Martínez, encargado del Trapiche Nuevo Ixcateopan, por facilitar los terrenos donde se establecieron los experimentos.

Al Dr. Oswaldo R. Taboada G. y al Maestro en Ciencias Ernesto Aceves R., así como a los compañeros voluntarios del Colegio de Postgraduados, amigos cercanos y familiares por su participación en la colecta de semillas, siembra, toma de datos y cosecha.

2.8 LITERATURA CITADA

Acatzi, A.; Magaña, J.; Moles, C.; Peña, C.; Castillo, M.; Quirasco, M.; Signorini, M. y Galvez, A. 2008. Detection and quantification of GM maize varieties in Mexican imports. In: European Commission. 1st Global Conference on GMO Analysis. Book of Abstracts. Villa Erba, Como,

Italy, 24-27 June, 2008. p. 31. <http://gmoglobalconference.jrc.ec.europa.eu/> (Consultado en abril de 2011).

Ángeles-Gaspar, E.; Ortiz-Torres, E.; López, P. A. y López-Romero, G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *RFM* 33(4):287-296.

Bellon, M. 2002. Analysis of the demand for crop characteristics by wealth and gender: A case study from Oaxaca, Mexico. In: Bellon, M. and Reeves, J. (Eds.). *Quantitative Analysis of Data from Participatory Methods in Plant Breeding*. CIMMYT. Mexico, D. F. pp. 66-81.

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

De la Rosa, P., P.; Jiménez S., L.; Ramírez V., B.; Ramírez J., J. y Escalante R., E. R. 2006. Evaluación de un programa de transferencia de tecnología hidropónica en unidades campesinas de la Mixteca Poblana. In: Ocampo F., I.; Escobedo C., J. F. y Ramírez V., B. (Coords.) *El agua: recurso en crisis*. Colegio de Postgraduados Campus Puebla y Fundación Produce Puebla, A. C. pp. 175-208.

Della Porta, G.; Ederle, D.; Bucchini, L.; Prandi, M.; Verderio, A. y Pozzi, C. 2008. Maize pollen mediated gene flow in the Po valley (Italy): Source-recipient distance and effect of flowering time. *European Journal of Agronomy* 28:255-265.

DICONSA. 2011. Directorio de tiendas. http://www.diconsa.gob.mx/images/swfs/paayar/mpal/directorio_tiendas.htm (consultado en marzo de 2011).

Dyer, G. A.; Serratos-Hernández, J. A.; Perales, H. R.; Gepts, P.; Piñeyro-Nelson, A.; Chávez, A.; Salinas-Arreortua, N.; Yúnez-Naude, A.; Taylor, J. E. y Álvarez-Buylla, E. R. 2009. Dispersal of transgenes through maize seed systems in Mexico. *PloS ONE* 4(5):e5734.

Gil M. A.; López, P. A.; Muñoz O., A. y López S., H. 2004. Variedades criollas de maíz (*Zea mays* L.) en el Estado de Puebla, México: diversidad y utilización. In: Chávez-Servia, J. L.; Tuxill, J. y Jarvis, D. I. (Eds.) *Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales*. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Cali, Colombia. pp. 18-25.

Hallauer, A. R. 1987. Maize. In: Fehr, W. R. (Ed.). Principles of Cultivar Development. Vol. 2. Crop Species. Macmillan Publishing Company, USA. pp. 249-294.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2011. México en cifras. Información nacional, por entidad federativa y municipios. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?ent=21> (Consultado en abril de 2011).

Kato Y., T. A.; Mapes S., C.; Mera O., L. M.; Serratos H., J. A. y Bye B., R. A. 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. 116 p.

Mercer, K. L. y Wainwright, J. D. 2008. Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: An analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123:109-115.

Mohammadi, S. A. y Prasanna, B. M. 2003. Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants—Salient Statistical Tools and Considerations. *Crop Science* 43:1235-1248

Muñoz O., A. 2005. Centli-Maíz. Prehistoria e Historia, Diversidad, Potencial, Origen Genético y Geográfico, Glosario Centli-Maíz. Segunda Edición. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 210 p.

Pla, L. E. 1986. Análisis Multivariado. Método de Componentes principales. Departamento de Producción vegetal. Área de Ciencias del Agro y Mar. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda. Coro. Falcón. Venezuela. 79 p.

SAS. 2002-2003. Statistical Analysis System. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental. 2004. Maíz y biodiversidad: Efectos del maíz transgénico en México. Conclusiones y Recomendaciones. http://www.cec.org/Page.asp?PageID=924&SiteNodeID=347&AA_SiteLanguageID=3 (Consultado en marzo de 2011).

Serratos H., J. A. 2009. Bioseguridad y dispersión del maíz transgénico en México. *Ciencias* 92-93:130-141

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2011. Cierre de la producción agrícola por estado.

http://www.siap.sagarpa.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351
(consultado en marzo de 2011).

Smith, B. D. 2001. Documenting plant domestication: The consilience of biological and archaeological approaches. *PNAS* 98(4):1324-1326.

Soleri, D. y Cleveland, D. A. 2006. Transgenic maize and Mexican maize diversity: Risky synergy? *Agriculture and Human Values* 23:27-31.

Soleri, D.; Cleveland, D. A., y Aragón C., F. 2006. Transgenic crops and crop varietal diversity: The case of maize in Mexico. *BioScience* 56(6):503-513.

Soleri, D.; Cleveland, D. A.; Aragón C., F.; Fuentes L., M. R.; Ríos L., H. y Sweeney, S. H. 2006. Understanding the potential impacts of transgenic crops in traditional agriculture: maize farmers' perspectives in Cuba, Guatemala and Mexico. *Environmental Biosafety Research* 4(3):141-166.

Steel, R. G. D. y Torrie, J. H. 1986. *Bioestadística: principios y procedimientos*. Segunda edición. McGraw-Hill. México. 622 p.

Vavilov, N. I. 1930. México y Centroamérica como centro básico de origen de las plantas cultivadas del Nuevo Mundo. *Revista de Geografía Agrícola* 20:15-34 (Trad. de E. Gribovskaia y R. Ortega P.).

**III. DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL PROMOTOR CaMV-35S EN SEMILLAS
DE MAÍZ MEDIANTE PCR TIEMPO-REAL, EN DOS REGIONES DEL ESTADO DE
PUEBLA, MÉXICO**

**DETECTION AND QUANTIFICATION OF CaMV-35S PROMOTER THROUGH
REAL-TIME PCR IN MAIZE SEEDS, IN TWO REGIONS OF PUEBLA STATE,
MÉXICO**

Nayeli Itzell Carreón-Herrera ⁽¹⁾, Higinio López-Sánchez ^{(1)¶}, Abel Gil-Muñoz ⁽¹⁾, Ma. Alejandra
Gutiérrez-Espinosa ⁽²⁾ y Ernestina Valadez-Moctezuma ⁽³⁾.

⁽¹⁾ Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km.125.5 Carretera Federal México-Puebla,
Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla, México. C.P. 72760.

⁽²⁾ Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera Federal México-Texcoco,
Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México. C.P. 56230.

⁽³⁾ Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Km. 38.5 Carretera Federal
México-Texcoco, Chapingo, Texcoco, Edo. de México. México. C.P. 56230.

¶Autor Responsable: higiniools@colpos.mx

3.1 RESUMEN

La presencia de transgenes en poblaciones nativas de maíz mexicano y su posible efecto en la diversidad genética, la salud humana, la ecología, etc., ha sido motivo de controversia. El objetivo del presente estudio fue cuantificar secuencias transgénicas en semilla de poblaciones nativas de maíz y en granos provenientes de las tiendas DICONSA. Se cuantificó la presencia del promotor del Virus Mosaico de la Coliflor (CaMV, por sus siglas en inglés)-35S en semilla de 47 poblaciones nativas de maíz colectadas en el estado de Puebla, en 36 localidades de 15 municipios de las regiones Sierra Nororiental y Mixteca Baja y en grano de 11 muestras de maíz de tiendas DICONSA. La cuantificación se llevó a cabo mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real, utilizando el Kit TaqMan[®] GMO Maize 35S y estándares de referencia certificados. Se encontró la presencia del promotor CaMV-35S en el 36 % de las muestras evaluadas: 17 de poblaciones nativas y 4 de tiendas DICONSA, en porcentajes ubicados entre los estándares de referencia de 0.31 y 0.01%. Las muestras con mayor cantidad fueron la 124, 166 y 118, con 0.249, 0.042 y 0.037 %, respectivamente. Las muestras 124 y 118, de color azul y amarillo, corresponden a agricultores de los Municipios Ahuehuetitla y San Pablo Anicano, mientras que la muestra 166, de color blanco, provino de una tienda DICONSA del Progreso, Piaxtla. Aunque en cantidades pequeñas, el porcentaje de muestras contaminadas es alto, y puede incrementarse dentro y entre poblaciones, por el flujo génico que existe en el maíz.

Palabras clave: maíz transgénico, promotor CaMV-35S, PCR Tiempo-Real, Puebla.

3.2 ABSTRACT

Transgene presence in Mexican native maize landraces and its possible effect on genetic diversity, human health, ecology, etc., has been a topic of controversy. The aim of this research was to quantify transgenic sequences in native maize landraces seeds and in grain taken from DICONSA stores. Cauliflower Mosaic Virus Promoter 35S (CaMV-35S) was quantified in seeds of 47 native maize landraces collected in Puebla State, Mexico, from 36 localities of 15 Counties of Northeast Sierra and Mixteca Baja, and in 11 samples of grain taken from DICONSA stores. CaMV-35S promoter quantification was carried out by RT-PCR, using the TaqMan[®] GMO Maize 35S Kit, and certified reference standards. It was found that CaMV-35S promoter was present in 36 % of samples evaluated: 17 native samples and 4 from DICONSA stores, at percentages between 0.31 and 0.01 % standards. The samples with higher promoter amounts were 124, 166 and 118, with 0.249, 0.042 and 0.037 %, respectively. The blue-seeded 124 and yellow-seeded 118 samples belong to farmers from Ahuehuetitla and San Pablo Anicano Counties, meanwhile the white-seeded 166 sample was taken from a DICONSA store located at Progreso, Piaxtla. Although at little amounts, percentage of contaminated samples is high, and it may increase in and between landraces, due to the existence of maize gene flow.

Key Words: Transgenic Corn, CaMV-35S promoter, RT-PCR, Puebla.

3.3 INTRODUCCIÓN

Desde que en la literatura se indicó la presencia de transgenes en variedades nativas de maíz y en granos de maíz distribuidas por las tiendas DICONSA (Distribuidora Conasupo S.A.) en cuatro áreas del Estado de Oaxaca, México (Quist y Chapela, 2001), se han generado varios estudios en los cuales se ha tratado de comprobar o desmentir su presencia en México (Christou, 2002; Ortiz-García *et al.*, 2005; Raven, 2005; Cleveland *et al.*, 2006; Mercer y Wainwright, 2008; McAfee, 2007; Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009; Snow, 2009; Wainwright y Mercer, 2009); por consiguiente, se ha generado una gran discusión internacional, debido a que México es considerado como centro de origen y diversidad del maíz (Vavilov, 1930; Matsuoka *et al.*, 2002), y por no conocer en forma satisfactoria los efectos producidos por los organismos genéticamente modificados en la salud humana, en la diversidad genética, en el ambiente y la sociedad (NRC, 2002; CEC, 2004; Ludy, 2006; Andow y Zwahlen, 2006; Douville *et al.*, 2006; Liu, 2009; Raybould *et al.*, 2010). Por lo anterior, las autoridades mexicanas aprobaron una moratoria de ley para la protección del maíz nativo en la que no se permite la siembra a nivel comercial de maíz transgénico (LBOGM 2005; RLBOGM, 2009).

Se han planteado varias fuentes de introducción de transgenes al país, como la introducción de semillas provenientes de los EU (Soleri *et al.*, 2006), el intercambio de semillas entre productores y la importación y distribución de grano por las tiendas DICONSA (Mercer y Wainwright, 2008; Dyer *et al.*, 2009; Snow, 2009).

Utilizando técnicas moleculares, Quist y Chapela (2001) realizaron un estudio en la Sierra de Oaxaca y revelaron que muestras de maíz colectadas en tiendas DICONSA, presentaron amplificación, comparable en intensidad, con la amplificación de los controles transgénicos

positivos Bt1 y RR1 (Monsanto Corporation). Por estas razones, y debido a que el Estado de Puebla es vecino de Estados en los que ya se ha reportado introgresión de material transgénico, en este trabajo se colectó semilla y grano de maíz en la Sierra Nororiental y la Mixteca Baja del el Estado de Puebla, pues son regiones reportadas con un índice de marginación considerado como alto (CONAPO, 2005), situación que genera una demanda considerable de maíz por parte de los agricultores hacia las tiendas DICONSA. Lo anterior, y considerando que el agricultor llega a sembrar grano distribuido por DICONSA, incrementa la posibilidad de flujo de transgenes a las poblaciones nativas de maíz en ambas regiones, en caso de que el grano de DICONSA los contenga. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue cuantificar la presencia del promotor del Virus Mosaico de la Coliflor (CaMV, por sus siglas en inglés)-35S, utilizado en la generación de híbridos de maíz transgénico, en poblaciones nativas de maíz en ambas regiones y en grano distribuido por DICONSA.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Localidades y Municipios de colecta

En el año 2008 se colectaron granos y semillas en 14 localidades de tres municipios de la Sierra Nororiental y en 22 localidades de 12 municipios de la Mixteca Baja en el Estado de Puebla (Figura 1 y Cuadro 1); además, se colectó grano en 11 tiendas DICONSA dentro de la zona de distribución de sus mismos almacenes regionales (González Ortega de la Sierra Nororiental y San Bernardo Acatlán y Tecomatlán en la Mixteca Baja). La condición para seleccionar las localidades para las colectas fue que contaran con una tienda y que vendieran o hubieran vendido granos de maíz a agricultores en los últimos años.

- Municipios
- | | |
|----------------------------|------------------------------|
| 1. Chilchotla | 9. Chila |
| 2. Quimixtlán | 10. San Miguel Ixtlán |
| 3. Chichiquila | 11. San Pedro Yeloixtlahuaca |
| 4. Cuayuca de Andrade | 12. Guadalupe |
| 5. Acatlán | 13. San Pablo Anicano |
| 6. Xayacatlán de Bravo | 14. Ahuehuetitla |
| 7. San Jerónimo Xayacatlán | 15. Piaxtla |
| 8. Petlalcingo | 16. Tecamatlán |

● Municipios donde han sembrado granos de Diconsa

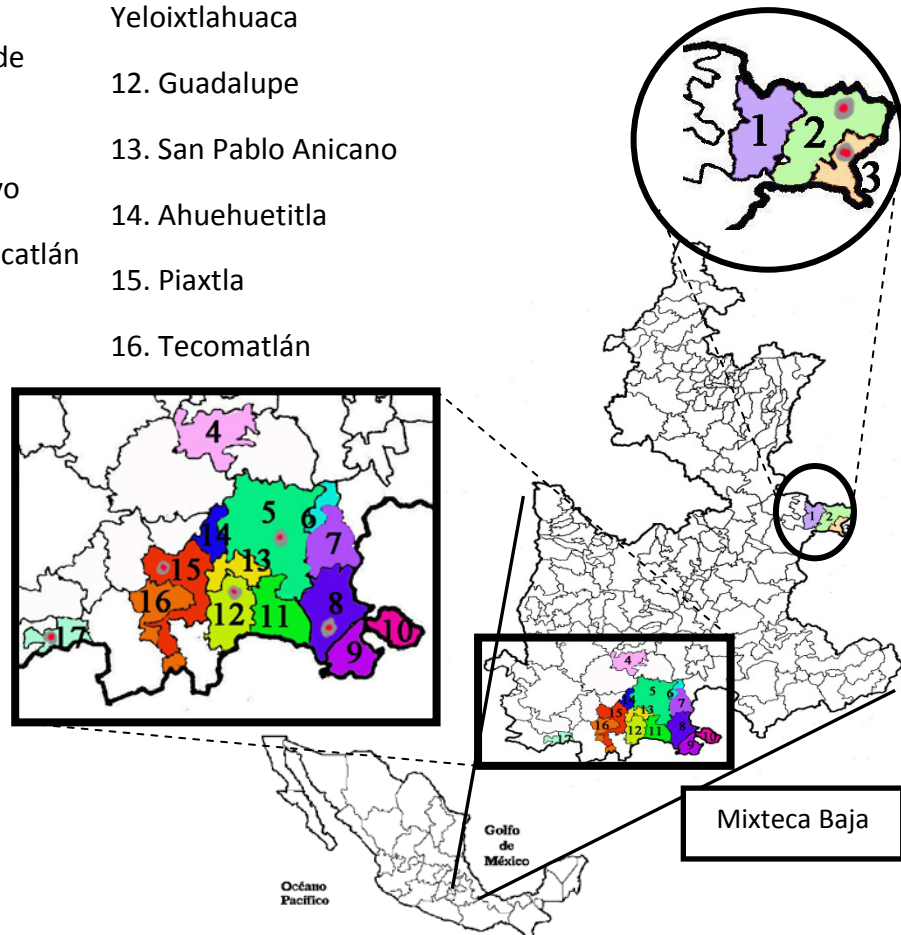


Figura 1. Zonas de colecta de semilla de poblaciones nativas de maíz y grano proveniente de las tiendas DICONSA, en dos regiones del Estado de Puebla, México 2008.

3.4.2 Material genético

El cuadro 1 muestra el material genético colectado en las dos regiones del Estado de Puebla, así como el número de la colección con el que se identificaron las muestras y la localidad y Municipio de donde se obtuvieron. Además se indica el color de la semilla o grano. En total

fueron 58 muestras, 47 de agricultores y 11 de las tiendas DICONSA. De las 58, 36 fueron semilla de color blanco, 10 amarillas, 8 azules y 4 rojas.

Cuadro 1. Procedencia de las colecciones de semilla y grano de maíz para el estudio de cuantificación del promotor CaMV-35S.

Colección	Color	Origen	Localidad	Municipio
1	Bl	DI-GO	Chichiquila	Chichiquila
3, 4	Am, Az	P	Huaxcaleca	Chichiquila
5	Bl	P	Paso Puente Santana	Chichiquila
8	Az	P	Vista Hermosa	Chichiquila
11	Bl	DI-GO	Trincheras	Chichiquila
13	Bl	P	Ocotlán	Chichiquila
18	Bl	P	Tizapan	Chichiquila
23	Am	P	Chichiquila	Chichiquila
32, 33	Az, Bl	P	Atlaxco	Chichiquila
37	Bl	DI-GO	Barrio de San Juan	Quimixtlán
39	Bl	DI-GO	Tozihuic	Quimixtlán
45, 46	Bl	P	Rincón de los Reyes	Quimixtlán
50, 52	Bl, Ro	P	Buena Vista	Quimixtlán
55, 56, 60	Am, Bl, Am	P	Quimixtlán	Quimixtlán
63, 65	Az, Bla	P	La Trinidad	Chilchotla
67	Bl	DI-SB	Hermenegildo Galeana	Acatlán
69	Bl	DI-SB	Vista Hermosa	Guadalupe
71	Bl	DI-SB	Nuevos Horizontes	Acatlán
73	Az	P	San Rafael la Paz	Guadalupe
76, 78	Am, Az	P	Hermenegildo Galeana	Acatlán
81	Bl	P	Nuevos Horizontes	Acatlán
84	Bl	P	La Providencia	Guadalupe
86, 87	Bl, Bl	P	Vista Hermosa	Guadalupe
93	Bl	P	San Miguel Tulapa	San Pablo Anicano
96	Am	P	Guadalupito	Guadalupe
100	Bl	P	San Bernardo	Acatlán
106	Az	P	La Noria Chica	Acatlán
109	Bl	P	Mixquitepec	Guadalupe
113	Bl	DI-SB	San Isidro Labrador	San Pedro Yeloixtlahuaca
116	Bl	DI-SB	San Pablo Anicano	San Pablo Anicano
118	Am	P	San Pablo Anicano	San Pablo Anicano

124	Az	P	Ahuehuetitla	Ahuehuetitla
126, 129	Bl, Ro	P	Barrio de Guadalupe	Acatlán
131	Bl	P	San Isidro Labrador	San Pedro Yeloixtlahuaca
135	Bl	DI-SB	Gabino Barreda	San Jerónimo Xayacatlán
137	Bl	DI-SB	Xayacatlán de Bravo	Xayacatlan de Bravo
138	Bl	P	Gabino Barreda	San Jerónimo Xayacatlán
142	Bl	P	Chila de las Flores	Chila de las Flores
144	Am	P	San Miguel Ixtlán	San Miguel Ixtlán
159	Bl	P	Tepejillo	Petlalcingo
161	Bl	P	Xayacatlán de Bravo	Xayacatlán de Bravo
166	Bl	DI-T	El Progreso	Piaxtla
167, 170	Am, Ro	P	Albino Zertuche	Albino Zertuche
175	Bl	P	Yetla	Piaxtla
178, 179	Bl, Am	P	El Progreso	Piaxtla
204	Bl	DI-T	San Pedro Cuayuca	Cuayuca de Andrade

P: Productor, DI-GO: DICONSA -González Ortega, DI-SB: DICONSA -San Bernardo, DI-T:

DICONSA -Tecomatlán, Bl: Blanco, Am: Amarillo, Az: Azul, Ro: Rojo.

3.4.3 Material de referencia certificada

Se utilizaron estándares de referencia certificados por The Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, Geel, Bélgica) de harina transgénica de maíz correspondientes al evento MON 863x MON 810 con 9.9 % de contenido de material transgénico, a partir del cual se realizaron diluciones seriales en proporción 1:2, obteniendo estándares de 5, 1.25, 0.62, 0.31 y 0.01%, con los cuales se realizaron las curvas estándar de calibración. El estándar de 0.01 % fue considerado como límite mínimo de referencia para la detección del promotor CaMV-35S por razones de precisión y exactitud.

3.4.5 Extracción de DNA y Calidad de DNA

El DNA de las 58 muestras fue obtenido moliendo un kilogramo de grano o semilla por muestras hasta lograr una harina muy fina y haciendo un sub-muestreo, dividiendo toda la harina de cada

muestra en cuartos y tomando de cada cuarto una pequeña muestra en diferentes puntos del cuarto hasta obtener 0.15 mg, procedimiento que se repitió para obtener 2 repeticiones. Posteriormente se siguió el protocolo de extracción por medio de membranas con el Kit de extracción DNeasy Plant Mini (QIAGEN, Hilden, Alemania). De igual forma, la extracción de DNA de la harina de los estándares de referencia fue hecha con el mismo kit de extracción. La cuantificación y calidad de DNA se determinó con el equipo NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, Wilmington, USA).

3.4.6 Reacción en Cadena de la Polimerasa Tiempo-Real

La amplificación del DNA se realizó mediante el kit para detección de organismos genéticamente modificados TaqMan[®] Genetically Modified Organism (GMO) Maize 35S Detection (Applied Biosystems, California USA), el cual está diseñado para realizar una PCR múltiple en la que cuantifica de forma simultánea la región del promotor 35S y una región no transgénica llamada Referencia Endógena (ER por sus siglas en inglés) específica para maíz. La región transgénica fue detectada por una sonda marcada con el fluoróforo FAM (Fluorescencia 6-carboxi), y la ER con el fluoróforo VIC, las dos sondas trabajaron con el Quencher TAMRA (6-carboxi-tetrametilrodamina) y con la referencia pasiva ROX (6-carboxi-X-rodamina). La reacción de PCR en Tiempo Real se realizó en un volumen final de 30 µl, que incluyó: 26.4 µl de TaqMan GMO Mix, 0.6 unidades de AmpliTaq Gold[®] DNA Polymerase y 100 ng de DNA por muestra por reacción, haciendo 3 repeticiones por cada estándar de referencia y 2 por muestra analizada. El programa de termociclaje consistió en una desnaturalización inicial de 94 °C por 9 minutos y 40 ciclos con una desnaturalización a 95 °C por 20 segundos, alineamiento a 60 °C por un minuto y por último una extensión a 72 °C por 30 segundos. Los análisis fueron realizados usando el equipo StepOne Plus (Applied Biosystems, California, USA).

3.4.7 Cuantificación del promotor CaMV-35S

Se realizaron curvas de amplificación y una curva estándar comparando la cantidad de transgénico detectado contra los valores de los umbrales de detección (Ct) obtenidos de los estándares y las muestras; los valores de la pendiente, R^2 y eficiencia fueron calculados por el mismo programa (StepOne™ Software Version 2.1 de Applied Biosystems, California, USA).

Para determinar el contenido en porcentaje del promotor CaMV-35S en las muestras, los valores promedio de la cuantificación detectada para el promotor, se dividieron entre el valor promedio cuantificado de la ER y se multiplicaron por 100.

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Calidad de DNA

El DNA obtenido de las muestras y de los estándares de referencia vario desde 20 hasta 48.8 ng/ μ l, con un valor de 260/280 entre 1.73 y 1.95, lo que indica que la calidad es aceptable pues no hay presencia de residuos de proteína o RNA que interfieran en la correcta amplificación del DNA.

3.5.2 Curvas estándar para el promotor CaMV-35S

El contenido del promotor fue cuantificado usando una curva estándar generada mediante estándares de referencia con una escala de dilución de 1:2, en la que se define un umbral de detección (Ct) donde ocurre una relación lineal entre los productos de PCR y la concentración de DNA durante la fase exponencial (Landavazo *et al.*, 2006).

La Figura 2 muestra las curvas estándar obtenidas para el análisis de cuantificación del promotor CaMV-35S. En estas se obtuvieron valores de la pendiente de -3.05 a -3.259, una R^2 de 0.996 a 0.998, y una eficiencia de 102.686 a 112.776, lo que según la European Network of GMO Laboratories (ENGL, 2005) se encuentran dentro del intervalo aceptable, pues los valores de la pendiente de la curva estándar deben ser ≥ -3.1 y ≤ -3.6 , y el coeficiente de R^2 debe ser ≥ 0.98 .

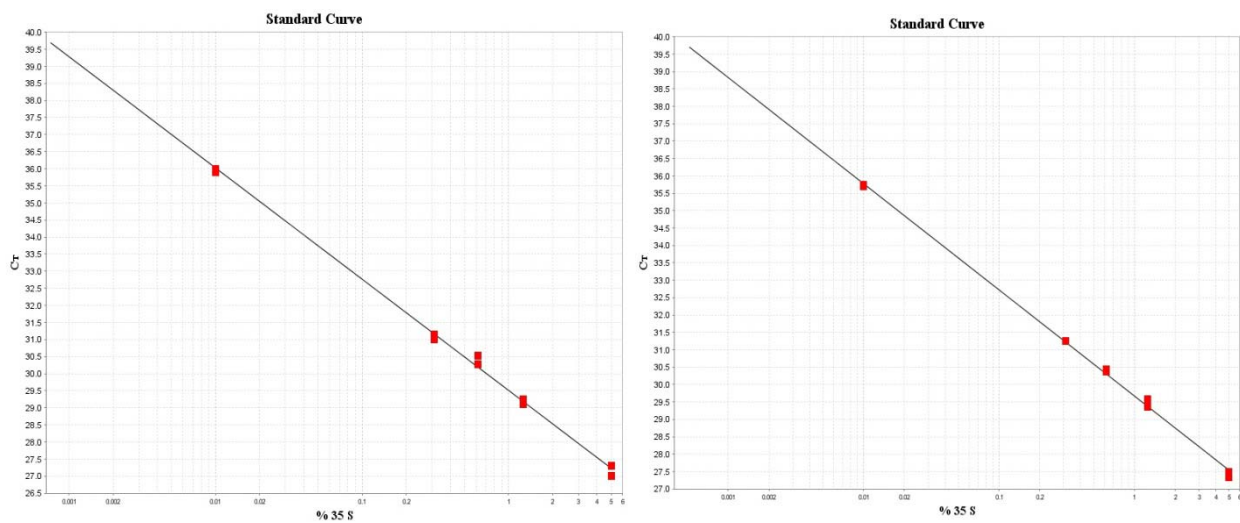


Figura 2. Curvas estándar para el promotor CaMV-35S, generadas a partir de concentraciones conocidas de referencias que contenían el promotor.

3.5.6 Detección del promotor CaMV-35S

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la PCR Tiempo Real; específicamente se muestra el porcentaje obtenido del promedio de las dos repeticiones por muestra, dentro del intervalo de precisión y exactitud definido por la correcta amplificación del estándar de 0.01 %. De las 58 muestras evaluadas 21 de ellas resultaron positivas a la presencia del promotor, lo que representa un 36.2 %. De las 21 muestras positivas 17 corresponden a semilla de poblaciones nativas y

cuatro a grano de tiendas DICONSA. Los valores oscilaron entre los estándares de referencia de 0.31 y 0.01 %. Las muestras con mayor cantidad fueron la 124, 166 y 118, con 0.249, 0.042 y 0.037 %, respectivamente. Las muestras 124 y 118, de color azul y amarillo, corresponden a agricultores de los Municipios Ahuehuetitla y San Pablo Anicano, mientras que la muestra 166, de color blanco, provino de una tienda DICONSA del Progreso, Piaxtla.

Cuadro 2. Resultados de la PCR Tiempo Real para detección del promotor CaMV-35S.

Colecta	35S (%)		Colecta	35S (%)	
C-	NA	NA	84	0.02057	+
1	0.00578	-	86	0.01293	+
3	0.00150	-	87	0.00505	-
4	0.00643	-	93	0	-
5	0.01365	+	96	0	-
8	0.01134	+	100	0.00392	-
11	0.01134	+	106	0.02189	+
13	0.00309	-	109	0.00385	-
18	0.01085	+	113	0	-
23	0.00566	-	116	0	-
32	0.01163	+	118	0.03795	+
33	0.00283	-	124	0.24979	+
37	0.01131	+	126	0	-
39	0.00301	-	129	0.00247	-
45	0.00275	-	131	0.01485	+
46	0.02125	+	135	0.01359	+
50	0.01001	+	137	0.00459	-
52	0.00122	-	138	0.00317	-
55	0.00618	-	142	0.00816	-
56	0.01320	+	144	0.01948	+
60	0.00476	-	159	0.00341	-
63	0.00681	-	161	0	-
65	0.01457	+	166	0.04233	+
67	0.00153	-	167	0	-
69	0.00137	-	170	0	-
71	0.00196	-	175	0.00617	-
73	0.01177	+	178	0	-
76	0.00897	-	179	0	-
78	0.00971	-	204	0	-
81	0.01172	+			

C-: Control no transgénico, NA: No Aplica, +: Resultado positivo, -: Resultado negativo. El porcentaje es resultado del promedio de las repeticiones de cada muestra.

La Figura 3 muestra las curvas de amplificación de los estándares de referencia y de la muestra 124, que fue en la que se obtuvo un mayor porcentaje del promotor CaMV-35S (0.24979 %), y la muestra 135 que amplificó dentro del límite de detección de precisión y exactitud con un 0.01359 %.

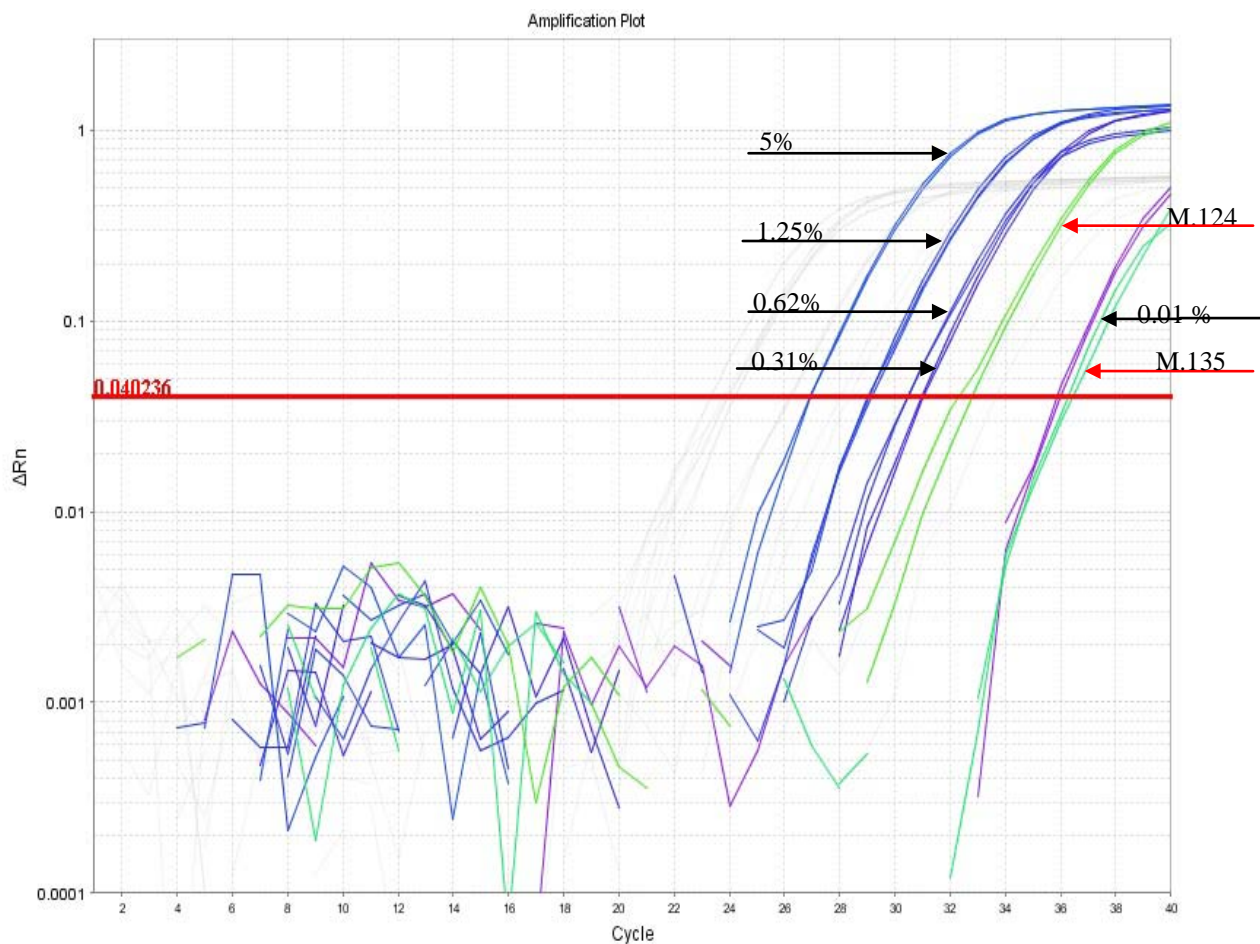


Figura 3. Intervalos de amplificación para el promotor CaMV-35S y amplificación detectada en la muestra 124 (M.124) y 135 (M.135).

La Figura 4 muestra los intervalos de amplificación de los estándares de referencia con la muestra positiva 124 y la muestra 109 en la que se detectó una amplificación de 0.00385 %, menor al estándar 0.01 %, por lo que fue considerada como negativa.

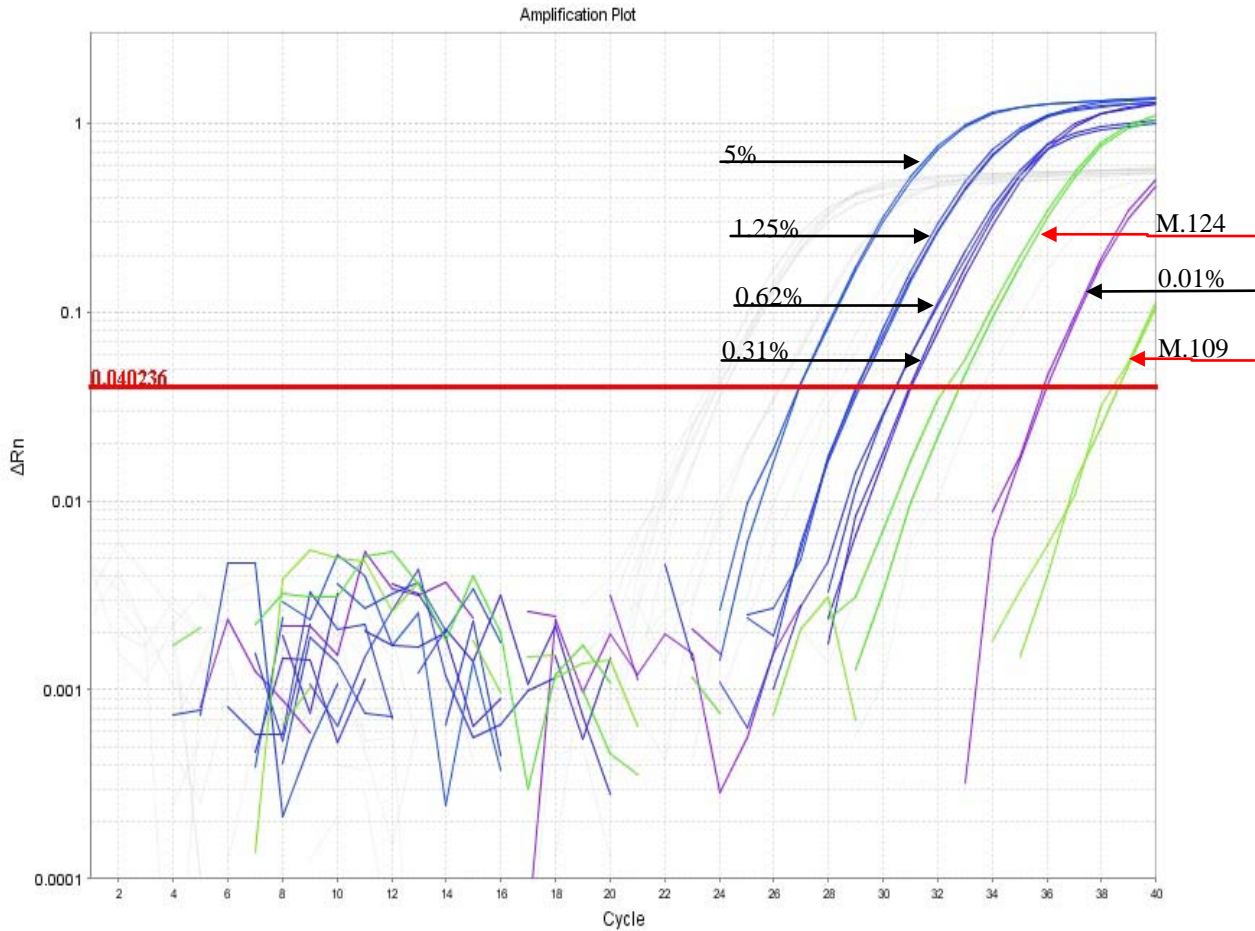


Figura 4. Intervalos de amplificación para el promotor CaMV-35S, y amplificación en la muestra 124 (M.124) y 109 (M.109).

La baja incidencia de transgenes detectada dentro de cada población en este y otros estudios puede atribuirse a que las plantas producidas con semilla de materiales introducidos no se han adaptado completamente a las condiciones ambientales de la región y a que la introgresión puede encontrarse en una etapa temprana, por lo que su distribución es aún limitada (Landavazo *et al.* 2006).

Los resultados de esta investigación se suman a otros (Quist y Chapela, 2001; Landavazo *et al.*, 2006; Acatzi *et al.*, 2008; Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009) que confirman la introgresión de transgenes en poblaciones nativas de maíz mexicano.

El trabajo realizado por Landavazo *et al.* (2006) en maíz nativo de la Sierra de Oaxaca, en el que también se realizó la detección del promotor CaMV-35S, muestra resultados similares, pero tomando como resultados positivos muestras con hasta nueve decimales (0.000000001). Si en esta investigación consideráramos el mismo criterio, la presencia de transgenes en las muestras se incrementarían de 21 a 47, o sea de 36.2 a 81 %.

El porcentaje de transgenes encontrado en este estudio es alto, aunque Herrera *et al.* (2002) reportan que detectaron 13 parcelas positivas para secuencias con el promotor CaMV-35S, que representó el 44% de las 29 parcelas que fueron analizadas en su estudio para el Estado de Oaxaca; incluso, en investigaciones realizados por el grupo ETC (ETC Group, 2003 a,b) se mencionan porcentajes de detección, en este caso a nivel de proteína, de 49 %.

Lo anterior es un indicador de que un considerable número de agricultores siembran grano obtenido en DICONSA y de que estas siembras son una fuente adicional de flujo transgénico entre poblaciones de maíz criollo. Al respecto, Soleri *et al.* (2006) reportan que en una encuesta aplicada a agricultores de 4 comunidades del Estado de Oaxaca, el 23 % (39 de 169) sembró grano no obtenido en su parcela, y que el 8 % sembró grano obtenido en tiendas gubernamentales. En nuestro estudio, al llevar a cabo la colecta se preguntó a los agricultores si habían sembrado grano obtenido de tiendas DICONSA. De las 47 muestras de agricultores evaluadas en este estudio 8 fueron sembradas, que representa el 17 %.

Con la confirmación de la presencia del promotor CaMV-35S en semilla de poblaciones nativas del Estado de Puebla se genera la necesidad de llevar a cabo investigaciones para determinar la magnitud del flujo transgénico de las poblaciones contaminadas hacia otras, aún sin la presencia de transgenes, de identificar los eventos transgénicos correspondientes, y el medio por el cual están llegando a la región, entre otros.

3.6 CONCLUSIONES

a) Se confirmó la presencia de transgenes, mediante la cuantificación del promotor CaMV-35S, en semilla de poblaciones nativas de maíz y en grano distribuido por las tiendas DICONSA en las regiones Sierra Nororiental y Mixteca Baja del Estado de Puebla.

b) Las cantidades del promotor CaMV-35S detectadas en las muestras fueron muy pequeñas, no siendo superiores a 0.03 %; sin embargo, el promotor se encontró en un 36 % de las colectas, lo que representa una cantidad considerable.

c) Debido a que el flujo génico entre plantas de maíz es posible por la forma reproductiva de éste, es de esperarse que las cantidades de transgenes entre y dentro de las poblaciones de maíz se incrementen en el futuro.

3.7 AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, por el apoyo económico brindado para la conducción de este proyecto, a través del PROEDAR y de la Línea Prioritaria de Investigación 6: Conservación y Mejoramiento de Recursos Genéticos.

A la M.C. Aremi Rebeca Contreras Toledo, por su apoyo en el proceso de la laboratorio de esta investigación.

A los integrantes del Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y al Laboratorio de Cultivo *in-vitro* del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

3.8 LITERATURA CITADA

Acatzi, A.; Magaña, J.; Moles, C.; Peña, C.; Castillo, M.; Quirasco, M.; Signorini, M. y Gálvez, A. 2008. Detection and quantification of GM maize varieties in Mexican imports. In: European Commission. 1st Global Conference on GMO Analysis. Book of Abstracts. Villa Erba, Como, Italy, 24-27 June, 2008. p. 31. <http://gmoglobalconference.jrc.ec.europa.eu/>. (Consultado en abril de 2011).

Andow, D.A. y Zwahlen, C. 2006. Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters*, 9: 196–214.

CEC. Commission for Environmental Cooperation. 2004. Maize and biodiversity: the effects of transgenic maize in Mexico. Key findings and recommendations. Secretariat article 13 report. http://www.cec.org/Storage/56/4837_Maize-and-Biodiversity_en.pdf. (Consultado en noviembre de 2010)

Christou, P. 2002. No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Transgenic Research* 11: iii–v.

Cleveland, D. A.; Soleri, D.; Aragón C., F.; Crossa, J. y Gepts, P. 2006. Detecting (trans) gene flow to landraces in centers of crop origin: lessons from the case of maize in Mexico. *Environ. Biosafety Res.* 4: 197–208.

CONAPO. Consejo Nacional de Población. Índices de Marginación 2005. http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/margina2005/anexoB/mapas/b_2106.pdf. (Consultado en abril de 2011)

Douville, M.; Gagné, F.; Blaise, C.; Andre, C. 2006. Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66: 195–203.

Dyer, G. A.; Serratos-Hernández, J. A.; Perales, H. R.; Gepts, P.; Piñeyro-Nelson, A.; Chávez, A.; Salinas-Arreortua, N.; Yúnez-Naude, A.; Taylor, J. E. y Álvarez-Buylla, E. R. 2009. Dispersal of transgenes through maize seed systems in Mexico. *PloS ONE* 4(5): e5734.

ENGL. European Network of GMO Laboratories. 2005. Definition of minimum Performance Requirements for Analytical Methods of GMO Testing. http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/Min_Perf_Requirements_Analytical_methods.pdf. (Consultado en abril de 2011).

ETC Group (Action Group on Erosion, Technology and Concentration). 2003a. Contamination of Bt Genetically Modified Maize in Mexico. Much Worse Than Feared. ETC Group, Mexico City, Mexico www.etcgroup.org.

ETC Group (Action Group on Erosion, Technology and Concentration), 2003b. Open Letter from International Civil Society Organizations on Transgenic Contamination in the Centers of Origin and Diversity. ETC Group, Mexico City, Mexico www.etcgroup.org.

Herrera L. A., Joffre y G., A; M.A., Huerta, E., Arriaga, L., Soberón, J., Ortiz, S., Aldama, A., Coteró, M.A., Serratos, J.A. 2002. Primer informe sobre análisis de la presencia de maíz transgénico en Oaxaca y Puebla. Secretaría de Agricultura, Ganadería; Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación/ Dirección General de Sanidad Vegetal/ Comité Intersecretarial de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 20 p.

Landavazo G., D. A.; Calvillo A., K. G.; Espinosa H., E.; González M., L; Aragón C., F.; Torres P., I.; Guzmán M., S.; Montero T., V.; Mora A., M. A. 2006. Caracterización molecular y biológica de genes recombinantes en maíz criollo de Oaxaca. *Agricultura Técnica en México* 32(3): 267-279.

LBOGM. Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 2005. http://www.conacyt.gob.-mx/cibiogem/Documents/Ley_BOGM.pdf. (Consultado en abril de 2011).

Liu, W. 2009. Effects of Bt transgenic crops on soil ecosystems: a review of a ten-year research in China. *Front. Agric.* 3(2): 190-198.

Ludy, C.; Lang, A. 2006. Bt maize pollen exposure and impact on the garden spider, *Araneus diadematus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 118: 145–156.

Matsuoka, Y.; Vigouroux, Y.; Goodman, M. M.; Sanchez G., J.; Buckler, E. y Doebley, J. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *PNAS* 99 (9): 6080-6084.

McAfee, K. 2007. Beyond techno-science: transgenic maize in the fight over Mexico's future. *Geoforum*. 39: 148-160.

Mercer, K. L.; Wainwright, J. D. 2008. Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: An analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 129: 109-115

NRC. National Research Council. 2002. Environmental effects of transgenic plants: the scope and adequacy of regulation. National Academy Press, Washington, D.C. <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309082633>. (Consultado en Abril 2011).

Ortiz-Garcia, S.; Ezcurra, E.; Schoel, B.; Acevedo, F.; Soberón, J. y Show, A. A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico. *PNAS*. 102 (35): 12338-12343 .

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

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

Raven, P. H. 2005. Transgenes in Mexican maize: Desirability or inevitability? *PNAS* 37: 13003–13004.

Raybould, A.; Graser, G.; Hill, K. y Ward, K. 2010. Ecological risk assessments for transgenic crops with combined insect-resistance traits: the example of Bt11 x MIR604 maize. *Journal of Applied Entomology*. 10.1111/j.1439-0418.2010.01601.x

RLBOGM. Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. 2009. http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/regley/Reg_LBOGM.pdf. (Consultado en abril de 2011).

Snow, A. 2009. Unwanted transgenes re-discovered in Oaxacan maize. *Molecular Ecology* 18: 569–571.

Soleri, D.; Cleveland, D. A., y Aragón C., F. 2006. Transgenic crops and crop varietal diversity: The case of maize in Mexico. *BioScience* 56(6):503-513.

Vavilov, N. I. 1930. México y Centroamérica como centro básico de origen de las plantas cultivadas del Nuevo Mundo. *Revista de Geografía Agrícola* 20:15-34.

Wainwright, J. and Mercer, K. 2009. The dilemma of decontamination: A Gramscian analysis of the Mexican transgenic maize dispute. *Geoforum* 40: 345–354.

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

4.1 CONCLUSIONES

Estas se presentarán con base en los objetivos e hipótesis planteados.

El primer objetivo se orientó a analizar la factibilidad de flujo génico vía polen entre plantas desarrolladas a partir del grano comercializado por las tiendas Diconsa y poblaciones nativas de maíz, en la región de la Mixteca Poblana. La hipótesis correspondiente estableció que era factible que las plantas provenientes del grano de tiendas Diconsa bajo las condiciones ambientales de la Mixteca llegaran a antesis, coincidiendo con la etapa de floración de los maíces nativos allí cultivados.

En esta investigación se encontró que, en las condiciones ambientales y de manejo agronómico de la Mixteca Poblana, el grano expendido por las tiendas Diconsa durante el 2008 germinó y dio origen a plantas que, aun cuando tuvieron algunos problemas de adaptación, fueron capaces de llegar a la etapa reproductiva, y que el periodo de antesis de varios de estos materiales coincidió con el de las poblaciones nativas. Por lo anterior, la hipótesis planteada es aceptada sólo en lo que corresponde a la antesis y a la coincidencia de las floraciones. Cabe mencionar que los resultados evidencian que el flujo inverso (polen de poblaciones nativas hacia materiales introducidos) es factible. Ello puede constituirse en otro mecanismo de dispersión de genes foráneos, pues varias de las mazorcas cosechadas en los materiales introducidos presentaron características que pudieran tornarlas seleccionables por los agricultores, quienes podrían iniciar procesos de ‘acriollamiento’ con ellas.

El segundo objetivo buscó desarrollar un estudio amplio, encaminado a detectar y cuantificar la presencia del promotor CaMV-35S en semillas nativas de maíz y en muestras de granos

provenientes de tiendas Diconsa, adscritas a los almacenes de Tecamatlán y San Bernardo Acatlán en la Mixteca Poblana y González Ortega en la Sierra Nororiental. La hipótesis de trabajo fue que se encontrarían muestras de maíz provenientes de ambas regiones, en las cuales estaría presente el promotor CaMV-35S.

El análisis practicado sobre 47 muestras de poblaciones nativas y 11 muestras de maíz de tiendas Diconsa evidenció que el promotor CaMV-35S estuvo presente en 36 % de las poblaciones nativas y en 36 % de los lotes de grano obtenidos en las tiendas Diconsa. Los porcentajes en los cuales se detectó el promotor mencionado en las poblaciones variaron entre 0.31 y 0.01 %. Estos elementos permiten concluir que la hipótesis se acepta. Aun cuando las frecuencias en las cuales se detectó el promotor (que es un componente inherente a las construcciones transgénicas) fueron bajas, el hecho de que se haya detectado en más de una tercera parte de las colectas de maíz nativo estudiadas es un aspecto que no debe dejarse pasar inadvertido.

4.2 RECOMENDACIONES

Con la confirmación de la presencia de material genéticamente modificado en los maíces nativos de las regiones Mixteca Poblana y Sierra Nororiental se hace evidente la necesidad de investigar la permanencia y/o el aumento en el porcentaje del promotor, e identificar los eventos transgénicos correspondientes. También sería de gran importancia precisar si existen otros medios de introgresión de transgenes a la región, para con ello reducir o, en su caso, evitar el flujo transgénico. En este sentido, y retomando los resultados de la presente investigación, una primera recomendación debe ser la instrumentación de programas de difusión, que permitan informar a los productores qué son las variedades transgénicas y en donde se resalte la importancia de seguir utilizando las poblaciones nativas de maíz. Un aspecto clave debe ser la

invitación a no sembrar maíz comercializado por las tiendas Diconsa, debido a la posibilidad de que pueda ser portador de secuencias transgénicas. Esta campaña deberá instrumentarse tanto en las regiones donde ya se detectó el promotor CaMV-35S como en aquellas donde todavía no se ha encontrado.