



CAPÍTULO 13
LINEAMIENTOS MÍNIMOS PARA UN PROGRAMA NACIONAL
DE BIOMONITOREO Y BIOSEGURIDAD DE OGM EN MÉXICO

△

*Alma Piñeyro Nelson, Elena R. Álvarez-Buylla,
Alejandra Celeste Dolores Fuentes y José Antonio Serratos Hernández*

Introducción

Un aspecto central de la bioseguridad de organismos genéticamente modificados (OGM) implica la capacidad de monitorear el escape y presencia no deseada o planeada de secuencias recombinantes (transgénicas) o transgenes en los genomas de variedades locales o nativas. La bioseguridad de OGM también tendría que considerar las consecuencias de dicho escape o presencia no deseada de transgenes en la salud y el ambiente. Pero en este ámbito existen aún muchas incógnitas o incertidumbres que ni siquiera pueden enumerarse por la naturaleza compleja de los organismos vivos y sus ecosistemas. Aunque desde la introducción de las primeras plantas transgénicas se han hecho esfuerzos valiosos por establecer lineamientos para la evaluación de OGMS en el ambiente y sus consecuencias (Tiedje *et al.*, 1989; NRC, 1989; Rissler y Mellon, 1993; Rissler y Mellon, 1996), con base en los cuales se han desarrollado marcos regulatorios de bioseguridad y algunos esquemas de biomonitoreo novedosos (Ej., Martens, 2008; Heinemann *et al.*, 2011), dicha naturaleza compleja de los seres vivos y los ecosistemas imposibilita análisis de riesgo cuantitativos, pues no es posible predecir cuales serán todos los efectos de las inserciones transgénicas y sus combinaciones en las miles de variedades nativas de maíz y en los diversos

agroecosistemas o ecosistemas naturales circundantes en donde dichas variedades se cultivan. Por lo anterior, resulta fundamental evitar el flujo de secuencias recombinantes de los organismos transgénicos a las variedades nativas, y para ello es importante contar con métodos eficaces que permitan monitorear a tiempo las fuentes y el escape o presencia no deseada de dichas secuencias transgénicas.

En este capítulo se analizarán tres aspectos fundamentales implicados en la detección de OGM: 1) los métodos de laboratorio basados en técnicas de biología molecular que actualmente son los más utilizados para la detección de transgénicos, así como sus limitaciones tanto técnicas como prácticas; 2) los esquemas para la toma de muestras en campo, que consideran el tamaño adecuado de una muestra (N), incluyendo número y distribución en el espacio de agricultores, campos de cultivo o de mazorcas y granos/semilla de maíz a coleccionar, factores que pueden afectar la capacidad para detectar transgenes presentes en bajas frecuencias y distribuidos de manera no homogénea; y 3) la infraestructura institucional (técnica y de personal capacitado) para llevar a cabo análisis moleculares de biomonitorio. En este último sentido, aseveramos que en México no existe la capacidad técnica o la organización institucional suficiente para detectar a tiempo y evitar la dispersión de transgenes en los acervos de maíz mexicano, y por lo tanto para asegurar que las variedades nativas de maíz permanezcan libres de transgenes (ver también capítulos 3 y 4).

Asimismo, concluimos que debido a su calidad de centro de origen y diversidad del maíz, e independientemente de la capacidad de monitoreo que se instale, en México ésta será inútil para garantizar la coexistencia sin flujo génico entre maíces transgénicos y no transgénicos una vez que se generalice la presencia de transgenes en los maíces mexicanos. En este sentido, se establece como prioritario el impedir que se sigan infiltrando transgenes a las variedades nativas de maíz cuyas vías de entrada más probables son: el maíz que se importa a granel y sin previa inspección, desde Estados Unidos, las semillas de híbridos comerciales provenientes de Estados Unidos y otros países como Sudáfrica, que pueden venir contaminados con híbridos transgénicos, y los maíces promovidos por el gobierno mexicano, los cuales también pueden estar mezclados con transgénicos.

A estas posibles fuentes de diseminación de transgenes se suma la evidencia científica resumida en el capítulo 3, que demuestra la gran movilidad de los maíces GM y la incapacidad de controlar su disper-

sión e introgresión a maíces nativos existentes a miles de kilómetros de distancia de siembras de transgénicos. En este capítulo se aportan los elementos científicos fundamentales y las prioridades en materia de bioseguridad y biomonitorio.

¿Qué es el biomonitorio y qué técnicas se utilizan para detectar los OGM?

El biomonitorio de organismos genéticamente modificados se refiere a la detección de OGM o sustancias derivadas de ellos en una muestra. Dicho biomonitorio puede utilizar muestras procesadas (alimentos industrializados, insumos alimenticios o de otra índole), así como semillas o tejido proveniente de plantas vivas. En estos productos se puede llevar a cabo pruebas de biología molecular para localizar la presencia de diversas moléculas biológicas: secuencias genéticas transgénicas o transgenes (ADN); productos intermediarios (ARN) o productos finales (proteínas recombinantes). Estos métodos moleculares son indispensables para la detección puesto que los OGM de uso agrícola existentes actualmente en el mercado no son distinguibles visualmente de sus contrapartes no transgénicas.

Para detectar la presencia de transgenes a nivel de ADN se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en dos modalidades: cualitativa (presencia/ausencia del gen) o cuantitativa (número de copias del gen/número de individuos o genomas analizados). Esta técnica lleva a cabo una clonación o copia repetida de una secuencia de ADN de interés en una mezcla *in vitro*. Es una técnica muy sensible a la presencia de pocas copias del gen de interés, por lo que hay que poner controles experimentales (positivos y negativos) adecuados para evitar obtener resultados inciertos o amplificaciones de secuencias contaminantes, es decir, falsos positivos.

Otra prueba basada en el ADN es la hibridación ADN-ADN tipo *Southern blot* (determinación del número de copias de un gen en una muestra individual). Esta técnica es más confiable pues se basa en el análisis directo del material genético de la planta, pero necesita de grandes cantidades de ADN de buena calidad (no apta para muestras donde el ADN está parcialmente degradado), así como de mayor elaboración y dificultad técnica, pero es menos susceptible a generar falsos positivos.

De estas dos técnicas basadas en detección de transgenes a nivel de ADN, la más utilizada es la prueba de PCR, ya que el ADN es bastante resistente a la manufactura de productos procesados y de éstos se puede extraer fragmentos pequeños de ADN, con los cuales se hacen pruebas de PCR para detectar secuencias cortas. Además, la prueba de PCR puede generar información cuantitativa. Una desventaja importante, es que existe evidencia de que el PCR cuantitativo puede generar resultados inesperados y no fáciles de interpretar cuando se usa en maíces nativos (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009b); dado lo anterior, es necesario estandarizar/optimizar dicha técnica para diferentes contextos genómicos/razas nativas. Por ello es que los laboratorios cuyas metodologías han sido estandarizadas basándose en protocolos elaborados por compañías extranjeras (como GENETIC ID o GENESCAN), que han establecido sus protocolos con base en híbridos comerciales, necesitarán nuevos controles para los distintos maíces nativos. Dado lo anterior, es preocupante que los laboratorios de análisis de las instancias del sector público mexicano encargadas de la bioseguridad y biomonitorio no hayan hecho públicas en forma rigurosa y detallada en la literatura especializada las técnicas de estandarización que están usando para detectar transgenes en las variedades nativas de maíz de nuestro país (Ej., Rojas Villegas, 2011).

Las dificultades técnicas discutidas arriba deben ser analizadas y solucionadas para asegurar que no se acumulen transgenes en la gran diversidad de variedades/razas nativas de un centro de origen/diversidad. Dicha diversidad genética inherente a las variedades o especies nativas, más las potenciales combinaciones de transgenes que se podrían generar vía flujo génico reiterado de un cultivo transgénico a su contraparte no transgénica, harán prácticamente imposible el monitoreo y seguimiento no sólo de la presencia de transgenes en estas variedades o especies nativas, sino de sus efectos (ver capítulo 3). Por ello, la dispersión de transgenes debe detectarse en los momentos incipientes de su ocurrencia, privilegiando la detección y cancelación de las fuentes de entrada de transgenes. Para lograr lo anterior es fundamental que, para toda técnica de laboratorio usada para llevar a cabo biomonitorio, se cuente con los controles experimentales (negativos y positivos) adecuados. Desafortunadamente, el acceso a dichos controles, no es siempre posible por secreto industrial.

Los transgenes también se pueden detectar mediante el análisis de la presencia de moléculas intermediarias (ARNm), utilizando una

modificación de la técnica de PCR llamada RT-PCR, o mediante una hibridación entre una molécula de ADN y de ARN llamada *Northern blot*. Estas técnicas son poco utilizadas para llevar a cabo biomonitorio ya que el ARN es una molécula mucho más lábil que el ADN y suele estar altamente degradada en productos procesados (para el caso del RT-PCR), mientras que se necesitaría extraerla en cantidades relativamente grandes para el caso del *Northern blot*.

Otra alternativa para detectar productos de la transgénesis es a partir de la detección de proteínas recombinantes producidas por un transgén. Esto se puede llevar a cabo por medio de varias técnicas: mediante una hibridación proteína-proteína llamada *Western blot* (al igual que en todas las técnicas *blot* mencionadas, se necesita una cantidad alta de la molécula bajo análisis y ésta no debe estar degradada). Otra prueba de laboratorio consiste en ensayos de tipo inmunológico, en donde se detectan proteínas recombinantes mediante un ensayo antígeno-anticuerpo. En esta categoría están las pruebas más utilizadas para determinación de proteínas recombinantes activas: las pruebas tipo ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay, por su siglas en inglés). Estas pruebas tienen una alta sensibilidad y especificidad, además de que pueden ser usadas de manera cuantitativa. Pero una desventaja importante de este tipo de pruebas es que no se han estandarizado para todas las proteínas recombinantes existentes, por lo que si una planta es negativa en una prueba de ELISA no se puede asegurar que no sea transgénica, sólo que no produce esa proteína recombinante en particular. En contraste, el PCR o SB para el promotor 35S CaMV, por ejemplo, estaría detectando más del 85% de las líneas de maíz transgénico comercializadas en Estados Unidos (ver www.agbios.org). Además, las pruebas de ELISA se pueden ver afectadas por fenómenos bioquímicos de silenciamiento transcripcional y postranscripcional, cuyo resultado fundamental es que una planta transgénica no produce la proteína recombinante esperada (Lakshminarayan *et al.*, 2000). Este fenómeno ha sido documentado experimentalmente en numerosas líneas de plantas transgénicas (Lakshminarayan *et al.*, 2000).

Es importante señalar que todas las pruebas anteriores tienen que ser llevadas a cabo a partir de extractos de la molécula de interés (ADN, ARN, proteína recombinante). Además, dependiendo del tipo de prueba a realizar, se requiere una mayor o menor preparación técnica, así como equipo de laboratorio e insumos cuyos costos oscilan entre 2 y 450 dólares por muestra, (para las técnicas, ver: Tripathi, 2005; y para

un cálculo de los costos, ver: www.porquebiotecnología.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=118).

Un último tipo de pruebas que se puede llevar a cabo son las fisiológicas en plantas o tejidos vivos. Estos ensayos se enfocan en detectar la producción de una proteína que confiere una cualidad particular a la planta bajo estudio, que no está presente en plantas no transformadas genéticamente, como puede ser la resistencia a ciertos antibióticos, herbicidas, etcétera. En este caso, se puede "pintar" (aplicar de manera exógena) un área particular de la planta con un antibiótico o herbicida y observar si hay necrosis (muerte celular) localizada. Si la planta no es resistente a este producto, entonces no posee el transgén que se está buscando, el cual le hubiera conferido dicha resistencia. Si la planta es resistente, entonces se puede inferir que posee un transgén que le confiere la resistencia. Una de las limitaciones de esta técnica es que no todas las plantas transgénicas producirán la proteína recombinante en dosis lo suficientemente altas como para ser claramente resistentes, además de que las condiciones ambientales pueden afectar la respuesta. Además, en algunos casos las plantas nativas pueden presentar la resistencia por variabilidad genética natural. Por estos motivos, dicha técnica no es muy utilizada o sólo es utilizada como complemento a otras de las técnicas mencionadas previamente.

Finalmente, se recomienda que se usen al menos dos técnicas independientes para cada individuo o muestra a analizar, para así poder asegurar la presencia o ausencia de un transgén.

Criterios para el muestreo de maíces nativos en el campo

A pesar de que se cuente con una técnica analítica de laboratorio que de manera eficaz detecte los transgenes, es imprescindible contar con una metodología adecuada para decidir cuántas muestras, con qué distribución (en el espacio geográfico, en los hogares, etcétera) y qué número de individuos, mazorcas o granos por muestra se tomarán del campo. Si la toma de muestras no se hace de la manera correcta, los positivos pueden existir y pasar inadvertidos porque no se les muestrea. Esto es particularmente cierto para casos en que las frecuencias son muy bajas o están muy agregadas. Entonces es crucial que el grado de error por "muestreo" se minimice.

Los métodos de muestreo deben tomar en cuenta la demografía/estructura de las poblaciones de maíz en México, sobre todo cuando se realicen colectas de maíz en sistemas de agricultura tradicional, donde los agricultores cosechan y guardan semilla en cada ciclo agrícola. En este tipo de sistema agrícola se ha documentado que la estructura de las poblaciones de maíz (entendida aquí como las parcelas de maíz dentro de una comunidad), está altamente influenciada no sólo por la tasa de polinización de una mazorca particular, esto es, por las plantas vecinas que fungen como plantas macho que proveen el polen, sino de manera importante por el manejo campesino, tanto en lo referente a qué semillas son sembradas en el siguiente ciclo agrícola, como por la dinámica de intercambio de semilla entre agricultores (ver Louette y Smale, 2000; Bellón y Berthaud, 2004; Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a). Ambos fenómenos han generado la enorme riqueza genética del maíz en México. Pero la consecuencia práctica de la biología y manejo humano del maíz es que un gen recientemente introducido en una población de maíz, que esté presente en frecuencias bajas, no tendrá una distribución homogénea en dicha población, si no que en algunas parcelas tendrá frecuencias muy altas y en otras tantas, éstas serán cero o cercanas a cero (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a; Snow, A. 2009). La implicación práctica de estas observaciones es que, si se lleva a cabo un muestreo de plantas de maíz en campo asumiendo una distribución homogénea (uniforme) de un transgén, existirá una probabilidad alta de no detectarlo por un error de (sub)muestreo, es decir, para tomar muy pocas semillas/plantas de maíz. El único reporte de funcionarios encargados de la bioseguridad del gobierno de México que ha sido publicado en una revista científica internacional prestigiosa (Ortiz-García *et al.*, 2005) aseguró que no encontró transgenes en los maíces de Oaxaca en muestras de 2002 y 2003 a pesar de que en sus propios estudios previos habían detectado una frecuencia alta de transgenes en esas poblaciones (Ezcurra *et al.*, 2002) y que en 2001 Quist y Chapela reportaron que habían encontrado transgenes en variedades nativas de la misma entidad de México. Posteriormente, se demostró que sí había contaminación transgénica en las mismas poblaciones de maíces nativos en cuestión (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a y b). Se argumentó en un estudio científico aparecido en la revista «Molecular Ecology», que el estudio hecho y publicado por los técnicos de instancias del sector público, probablemente no encontró los transgenes en localidades de Oaxaca por el tipo de muestreo realizado, aunque tampoco se pueden descartar falsos negativos (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009b).

Aún hace falta llevar a cabo más investigación sobre las estrategias óptimas de muestreo en los diferentes sistemas agrícolas y tomar en cuenta: la estructura poblacional, las dinámicas de uso y reemplazo de semillas, y la frecuencia potencial de transgenes. Estos parámetros probablemente varíen de manera significativa de sistema en sistema agrícola en nuestro país (Dyer *et al.*, 2009), aunque en Piñeyro y colaboradores (2009a) se establecen algunos lineamientos básicos y se muestran resultados de simulaciones por computadora que fundamentan las aseveraciones anteriores.

Capacidad institucional e independencia de intereses comerciales

Tanto las pruebas moleculares como los criterios de muestreo en campo deben ser realizados por personal con un alto grado de capacitación técnica específica para garantizar la certeza y reproducibilidad de los resultados obtenidos a partir de un esfuerzo de biomonitorio. En el caso de las pruebas de laboratorio, éstas deben ser realizadas en condiciones controladas y por personal capacitado en laboratorios con la infraestructura adecuada para llevar a cabo ensayos de biología molecular. Además, idealmente, para cada muestreo se deben hacer colectas por duplicado y análisis doble-ciego por al menos dos laboratorios independientes. En todos los casos, los laboratorios encargados del análisis de muestras deben llevar a cabo su labor sin ningún conflicto de intereses con respecto de los posibles resultados.

Dados los dos aspectos técnicos fundamentales involucrados en el biomonitorio de transgenes en maíz (muestreo y detección), aunado al tamaño, extensión y distribución de la producción maicera en México, es necesario contar con suficientes técnicos capacitados en esquemas adecuados de muestreo en campo, pero especialmente contar con suficientes laboratorios estatales especializados en detección de OGM. También será necesario el desarrollar nuevas metodologías que permitan un monitoreo más expedito y extensivo al alcance de todos los agricultores. Recientemente, se han propuesto algunas metodologías novedosas que pueden ayudar en este sentido (Kiddle *et al.*, 2012).

Los laboratorios encargados de verificar los monitoreos necesitarán estar capacitados para detectar no sólo transgenes en muestras de semillas o plantas provenientes del campo, sino también, de manera fundamental, en grano de maíz importado desde países donde se pro-

duce maíz transgénico, así como en alimentos procesados (tortillas, totopos, etcétera). En México se ha demostrado que es posible detectar transgenes en alimentos altamente procesados y también en tortillas y otros derivados de maíz (por ejemplo, las investigaciones efectuadas por la Dra. Amanda Gálvez de la Facultad de Química, UNAM).

En México, la capacidad técnica, el personal capacitado y la infraestructura instaladas son insuficientes; actualmente no existe la capacidad para llevar a cabo un biomonitorio eficaz y público. En uno de estos laboratorios (Rojas Villegas, 2011), en el informe del 2011 reportan haber realizado un total de menos de 3000 muestras que es mucho menor al esfuerzo logrado en algunos laboratorios de investigación, que con muchos menos recursos financieros, han logrado demostrar y publicar en la literatura científica que los transgenes pueden moverse a grandes distancias y han llegado a varias entidades del territorio nacional (Ej., Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a y b). Por otro lado, el laboratorio nacional que se encuentra formalmente certificado para llevar a cabo biomonitorio de OGM: el CENICA menciona que hay 12 laboratorios a nivel nacional que han desarrollado de manera independiente métodos de detección de OGM, tanto de muestras obtenidas directamente de tejidos vivos como de otras matrices como alimentos procesados, sin embargo, la información sobre quiénes son, dónde están, qué pruebas han montado, o que resultados han obtenido no está disponible públicamente. A continuación se hace una breve cronología de los esfuerzos gubernamentales para crear una infraestructura de biomonitorio con el fin de explicitar las carencias actuales en torno a este tema en nuestro país.

En 2004 —tres años después del primer caso probado de presencia de transgenes en maíces nativos mexicanos (ver Quist y Chapela, 2001)— el Instituto Nacional de Ecología (INE) inauguró, como resultado del apoyo del proyecto GEF-CIBIOGEM “Fortalecimiento de la Capacidad Nacional para el cumplimiento del Protocolo de Cartagena”, el Laboratorio de Biología Molecular en el Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CENICA), en donde se realiza la detección, identificación y cuantificación de OGM. En 2005, éste se convierte en el primer laboratorio a nivel nacional acreditado en la prueba para detección de maíz genéticamente modificado ante la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA)(www.ine.gob.mx).

Para validar los métodos empleados, el CENICA trabaja con Materiales de Referencia Certificados obtenidos principalmente del Instituto

de Materiales y Medidas de Referencia (IRMM), que forma parte del Centro de Investigaciones Comunes de la Comunidad Europea (JRC) (www.ine.gob.mx).

Asimismo, desde su acreditación, otro de los cometidos del CENICA es fungir como "laboratorio de referencia en materia de análisis de OGM, además de realizar investigaciones y colaborar en el monitoreo de OGM, competencias que le fueron atribuidas en el Reglamento Interior de la SEMARNAT en su artículo 115 fracciones XVI y XVII, respectivamente. Desde 2005 a la fecha ha realizado análisis de muestras obtenidas del monitoreo de OGM en 11 estados del país" (www.ine.gob.mx).

Dicho laboratorio, dependiente de la SEMARNAT, no sólo se dedica a esta labor; también lleva a cabo ensayos de calidad de agua, etcétera. Ahora bien, dado el volumen de siembra de maíz en México (9 millones de hectáreas en 2008; ver: www.sagarpa.gob.mx) y el volumen de importación de grano de maíz procedente de Estados Unidos (10 millones de grano en 2009; ver: www.sagarpa.gob.mx), país que es el principal productor de maíz transgénico en el mundo, cuyos lotes de maíz no son segregados previamente a su importación a nuestro país, la presencia de un laboratorio a nivel nacional y de algunos otros que se han ido montando (Rojas Villegas 2011) con poca capacidad de trabajo y de actualización científico-técnica para biomonitoreo de OGM es a todas luces insuficiente.

En concordancia con esta apreciación, en septiembre de 2007, la Dirección General del Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (DG-CENICA) realizó el primer foro nacional de métodos de detección de OGM como el primer paso para "identificar a los laboratorios de instituciones académicas, gubernamentales, privadas y del sector social que, en una segunda fase, se esperaba conformaran la Red Nacional de Laboratorios de detección de OGM en México", los cuales serían capaces de brindar asesoría técnica, realizar análisis de muestras y homologar métodos de laboratorio. En dicho foro se identificaron algunas necesidades como la capacitación técnica, la existencia de un laboratorio central que funja como la entidad que resguarde las muestras y las distribuya a los diferentes laboratorios, la definición de un comité técnico que coordine las actividades de la red, y la realización de actividades encaminadas a la validación de las metodologías empleadas en los laboratorios de la red (www.ine.gob.mx). En ningún momento quedó acreditada la necesidad de estandarizar las técnicas de biología molecular para detección de transgenes en maíces nativos, a pesar de haber sido

mencionado como algo prioritario por algunos de los asistentes a esta reunión o haberse demostrado como imprescindible en publicaciones científicas (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a).

Esta red tiene como objetivos: establecer la agenda de investigación prioritaria para el monitoreo de OGM que confiera dirección a los esfuerzos coordinados dentro de la red; proponer, desarrollar y evaluar investigaciones que hagan posible la integración de resultados, su comprobación y comparación sobre el monitoreo de los OGM liberados en el ambiente; realizar investigación científica a fin de generar información que facilite a las autoridades competentes la evaluación, el manejo y la comunicación de los beneficios y los riesgos por la liberación de los OGM en México, así como generar protocolos, manuales y lineamientos para documentar y sistematizar las actividades de monitoreo, sus resultados y análisis. Como es patente, esta red tendría que cubrir un espectro demasiado amplio de labores que podrían ser contradictorias: por un lado establecer una agenda de investigación de biomonitoreo *ad hoc* para el contexto mexicano, y por el otro, comunicar los beneficios y riesgos del uso de los OGM. En el medio, integrar y comprobar resultados de monitoreo de OGM liberados en el ambiente. Esta combinación contradictoria no sólo forma parte de la red, también está presente en la LBOGM, que se propone a la vez normar y promover el uso de OGM.

Esta red no se presentó oficialmente sino hasta el 27 de julio de 2009, cuando fue descrita como una herramienta de apoyo para evaluar, con sustento científico y técnico, los efectos —tanto positivos como negativos— que pudieran tener los OGM en el ambiente. Una vez más se confundía lo que debería ser el cometido de una red de biomonitoreo: monitorear la presencia de OGM y sus derivados en cultivos y productos procesados que pudieran contenerlos (www.cibiogem.gob.mx).

Lamentablemente, la única realidad ante la disyuntiva anterior es que, a la fecha, la Red Mexicana de Monitoreo de Organismos Genéticamente Modificados no cuenta con una red nacional de laboratorios de detección de OGM, libres de conflictos de interés, con capacidad técnica suficiente para efectuar un monitoreo a nivel nacional, pues se ha visto que los métodos usados en laboratorios comerciales certificados pueden proporcionar información poco precisa al incurrir en falsos negativos (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a y 2009b; folleto de CIBIOGEM).

Adicionalmente a la Red de Biomonitoreo, y de manera coincidente con la modificación del reglamento emanado de la LBOGM en marzo de 2009, se instauró el Centro Nacional de Referencia en Detección

de Organismos Genéticamente Modificados (CNRDOGM) del SENASICA, proyectándose como un centro con capacidad de entrega inmediata de resultados, siempre mediante el desarrollo y la validación de nuevos protocolos de detección de OGM. Con este cometido, el CNRDOGM pretende representar ante la sociedad una institución de vanguardia y liderazgo en la detección de los productos que la biotecnología moderna genera (www.senasica.gob.mx).

De manera interesante, se menciona que durante la semana del 16 al 20 de noviembre de 2009, personal del CNRDOGM participó en el entrenamiento para la transferencia de tecnologías en materia de detección, identificación y cuantificación de (OGM) de uso agroalimentario en las instalaciones de GENETIC ID—laboratorio comercial de detección de OGM—, en lugar de capacitarse en laboratorios públicos europeos o latinoamericanos que han desarrollado investigación propia para detectar transgenes, o de desarrollar métodos propios aptos para los maíces nativos mexicanos. Como se mencionó arriba el CNRDOGM ha gastado muchos recursos y producido resultados muy limitados y de manera poco transparente (Rojas Villegas 2011).

Otro de los laboratorios de los que se sabe que ha recibido algún tipo de capacitación para biomonitorio se encuentra en el Centro de Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), un centro público de investigación que pertenece al Sistema de Centros del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): el Laboratorio de Unidad Biotecnológica, que en 2008 fue acreditado por la Entidad Mexicana de Acreditación A.C. (EMA).

Finalmente, el Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM, liderado por la Dra. Amanda Gálvez Mariscal y la Dra. Maricarmen Quirasco Baruch, ha tenido entrenamiento internacional desde 1992 en Bioseguridad como un área emergente en el Centro Internacional de Ingeniería Genética y Biotecnología (ICGEB) y OCDE-Biotecnología. En 2002 iniciaron relaciones académicas con la empresa GENETIC ID (Gálvez Mariscal y Quirasco Baruch, 2008), pero a la fecha no se encuentra disponible información acerca de acreditaciones en el rubro de monitoreo y detección de OGM.

Si consideramos estos cuatro laboratorios como partícipes de los doce laboratorios que están considerados dentro de la red, entonces hay ocho laboratorios más de los cuales no se tiene información ni se sabe qué proceso de estandarización/certificación tienen; es decir, no hay transparencia en este sentido. El único de los cuatro laboratorios

que ha reportado sus datos en revistas científicas es el dirigido por la Dra. Amanda Gálvez en la UNAM.

Otro aspecto notable durante el establecimiento de esta red, que resulta muy problemático para el contexto mexicano, es que se está favoreciendo la estandarización y certificación de los laboratorios participantes a partir de criterios y técnicas moleculares que no han sido corroboradas como útiles, robustos y replicables para la detección de transgenes en maíces nativos, desde un laboratorio del estado. Esto no ha sido investigado a pesar de existir reportes de investigadores mexicanos que sugerían que la detección realizada a partir de ciertas pruebas de ELISA y PCR no estaba bien estandarizada; esta evidencia fue comunicada a los funcionarios gubernamentales encargados de biomonitorio desde 2002. En 2009 se publicaron en revistas científicas evidencias que sugieren que algunas técnicas de laboratorio (notablemente el PCR cuantitativo) no siempre funcionan o están mal estandarizadas para maíces nativos (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a y 2009b). Un riesgo adicional, producto de la conformación de esta red—dado que no es claro cómo se repartirá el financiamiento hacia los laboratorios que la integran, no se sabe si serán pagos por parte del Estado para realizar un servicio o si recibirán dinero de particulares que deseen investigar la presencia de transgenes en una muestra particular—, podría ocasionar que esta red se convierta en un grupo de interés económico que dependa de la existencia de cultivos transgénicos para sobrevivir. Además, en un contexto más amplio dicha red será la que se abroge el derecho por encima de productores y consumidores de controlar sus acervos de maíz o sus alimentos en términos de la presencia o no de transgenes. Esto último es particularmente preocupante y nos lleva a plantear la urgencia de establecer métodos que permitan a los agricultores la detección primaria de transgenes y el control del monitoreo de sus acervos. En este escenario las técnicas de biomonitorio y sus resultados serán también una herramienta de las empresas para fincar demandas en contra de productores cuyos acervos sean contaminados.

Ante esta situación, México se encuentra en un escenario en donde se están haciendo esfuerzos para dotar al país de una red de laboratorios que detecten OGM a partir de diferentes materiales (alimentos, semilla, etcétera), pero que no están basando su estandarización en métodos probados como útiles para detectar transgenes en maíces nativos mexicanos, sino en estandarizaciones establecidas por entidades internacionales como la JAOAC y a partir de asesoría por parte de empresas privadas que

realizan biomonitorio, como GENETIC ID. Si bien la armonización con criterios internacionales es necesaria, en particular con aquellos criterios establecidos por organismos científicos, sin conflicto de intereses (lo cual excluye a GENETIC ID por ser un agente que tiene un interés comercial en implementar sus técnicas para posiblemente abrir ramales de su empresa en nuestro país), también es necesario corroborar la confiabilidad y reproducibilidad de estas técnicas para detectar transgenes en contextos genómicos distintos a los maíces híbridos en que fueron estandarizadas. Hasta este momento, esto no se ha llevado a cabo en México. Finalmente, es crucial que esta red provea de herramientas de fácil implementación para la atención/detección primaria de transgenes por parte de los ciudadanos en general para una gestión colectiva de la bioseguridad.

Aunada a estas dos problemáticas, existe una situación que pone en entredicho la capacidad de nuestro país para llevar a cabo esta tarea: la falta de acceso y capacidad de producción de materiales de referencia certificados como controles experimentales positivos (una línea particular de maíz u otro cultivo transgénico) y negativos (una línea, variedad o raza de maíz u otro organismo del que se tenga la certeza de que no es transgénico), así como la carencia de políticas públicas que aseguren su conservación dinámica en campo en manos de los campesinos e indígenas: la única viable a largo plazo. El contar con un centro público de materiales de referencia verdaderamente comprometido con los intereses de los agricultores y campesinos es también crucial, ya que los materiales de referencia certificados son fundamentales para garantizar la confiabilidad de los resultados de cualquiera de las técnicas de biomonitorio mencionadas, en particular de aquellas basadas en ADN. Este tema ha recibido mucha atención en entidades como la Unión Europea, donde un centro de materiales de referencia certificados ha sido implementado (Rodríguez-Lázaro *et al.*, 2007). En nuestro país carecemos de este tipo de centros, y por lo tanto somos dependientes de que otros centros internacionales nos provean de materiales o quedamos a merced de que las empresas que producen OGM estén dispuestas a proveer los materiales de referencia certificados.

Este aspecto afectará no sólo a los futuros laboratorios certificados para detección de OGM en la red, sino que ya ha afectado a laboratorios de investigación en la UNAM y el CINVESTAV, así como a miembros de diferentes organizaciones civiles que desde 2001 hicieron esfuerzos de biomonitorio (para un resumen de dichos esfuerzos y resultados obtenidos

hasta 2007, ver: Mercer y Wainbright, 2008). En el caso particular de los laboratorios de investigación, además de tener sólo un pequeño número de controles experimentales positivos y negativos, también se ha tenido que contender con el fenómeno de que varios de los *kits* comerciales de detección de OGM no están bien estandarizados. Ambas situaciones han representado no sólo una inversión adicional de esfuerzo por parte de los miembros de dichos laboratorios para obtener resultados confiables, sino también un retraso en la velocidad de obtención de resultados.

La falta de acceso a controles experimentales adecuados, y la insuficiencia o fallas de algunos *kits* comerciales de detección de transgenes, ponen de manifiesto una situación que ha afectado desde sus inicios los esfuerzos para garantizar la bioseguridad de plantas cultivadas: el restringido acceso a información fidedigna de las construcciones transgénicas y los marcadores de selección utilizados en las diferentes líneas transgénicas ya comercializadas, así como de los materiales de referencia adecuados. Lo anterior es resultado de que la mayoría de estas secuencias se encuentra protegida por derechos de patente que evitan que sean públicas o que la información disponible sobre una patente dada sea fidedigna, mientras que los materiales de referencia o controles positivos y negativos son propiedad de las empresas productoras de transgénicos que deciden de manera discrecional a quienes (en particular cuando se refiere a investigadores independientes) proveérselas. En el caso de convenios internacionales, donde dichas empresas son obligadas a proveer de información sobre las secuencias introducidas y materiales certificados de referencia a los gobiernos de diferentes países que así lo exigen con el fin de llevar a cabo biomonitorio y análisis de riesgo de los OGM que están o serán introducidos para su producción o consumo, dichos gobiernos deben a su vez aceptar acuerdos de confidencialidad que impiden que al interior de cada país se pueda difundir esta información entre investigadores que están llevando a cabo biomonitorio (este es el caso de CONABIO en México).

Conclusiones: medidas de bioseguridad adecuadas para proteger las razas nativas de maíz en México

En este capítulo se repasaron brevemente las técnicas de biomonitorio utilizadas actualmente, así como sus dificultades técnicas, las dificultades técnicas de los muestreos en campo. Además, se analizó la capacidad

institucional de biomonitorio en México en cuanto al número de laboratorios capacitados para llevar a cabo pruebas de laboratorio. Aunada a estas limitaciones existe ahora evidencia científica de que la coexistencia sin flujo genético entre maíz GM y razas nativas mexicanas es imposible de garantizar dados los siguientes aspectos (abordados en el capítulo 4 de este libro): el sistema de reproducción del maíz y la movilidad del polen y semilla de maíz, la distribución de razas nativas en el territorio nacional, la dinámica de intercambio de semillas, los esquemas de comercialización y hábitos de uso del maíz, entre otros más.

La incapacidad de los encargados de la bioseguridad del maíz (y otras especies) del gobierno mexicano ha quedado demostrada por: publicar un artículo con datos negativos (Ortiz *et al.*, 2005), a pesar de que contaban con datos positivos de las mismas localidades (ver por ejemplo, Ezcurra *et al.*, 2002). Con esto se obstaculizó la publicación de los resultados que originalmente se habían encargado a dos laboratorios independientes (UNAM y CINVESTAV), lo que implicó un retraso de 8 años en materia de bioseguridad. Para los trabajos de biomonitorio se han recibido recursos de diversos fondos internacionales que ascienden a millones de dólares americanos. Sin embargo, hasta el momento no han hecho públicos los datos sobre sus esfuerzos de monitoreo ni tampoco sobre las fuentes de transgenes que han sido encontrados en varios acervos de los maíces nativos en campo. Con relación al Distrito Federal se publicaron resultados en los informes anuales del INE, 2007, 2008 y 2009. (Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009a).

Es desafortunado y preocupante que, a pesar de que el gobierno ha recibido fondos internacionales considerables (GEF/PNUD) y supuestamente ha invertido "recursos propios" para generar la capacidad nacional de biomonitorio y bioseguridad, ésta aún no existe y no se han producido los resultados deseados. Se ha perdido tiempo valioso en términos de bioseguridad y monitoreo en México, sobre todo del maíz pero también de otros cultivos como el algodón (Wegier *et al.*, 2011). Urge implementar una verdadera política pública dotada de capacidades técnicas para garantizar la bioseguridad en el caso particular del maíz y, en general, de la población, así como de los acervos de plantas de las cuales México es centro de origen y diversificación. Dicha política debe estar dirigida a impedir la contaminación de las variedades nativas con transgenes. Es necesario desarrollar una investigación de alto nivel para innovar en materia de biomonitorio y bioseguridad.

En este contexto, podemos concluir que la prioridad nacional en materia de bioseguridad para garantizar la integridad del maíz nativo mexicano es la prohibición de la liberación de maíz transgénico a cualquier escala en México; por lo cual es indispensable echar marcha atrás en la siembra experimental y piloto en campo de cualquier línea de maíz en México. En contraste, debe priorizarse: estandarizar adecuadamente los métodos de muestreo y análisis de laboratorio, diseñar nuevos métodos que permitan un acceso democrático y transparente a sus métodos y resultados a todo ciudadano, controlar las fuentes de entrada de semilla y grano transgénico biológicamente viables a nuestro país, tanto los provenientes de las importaciones de grano de maíz para consumo, como de las semillas que vienen de países donde se cultivan OGM. Esto se vuelve fundamental en un país donde el maíz se consume masivamente y de manera constante, ya que las insuficiencias en el biomonitorio se pueden traducir no sólo en una amenaza para la conservación de la diversidad genética de los maíces nativos, sino en un problema de salud pública que se puede ver acrecentado ante la posible entrada de semillas de maíz biorreactor.

Referencias

- Bellon, M.R. and Berthaud, J., (2004). Transgenic maize and the evolution of landrace diversity in México. The importance of farmers behavior. *Plant Physiol.*, vol. 134, núm. 3.
- Ezcurra, E., A. Valiente-Banuet, O. Flores-Villela y E. Vazquez, (2001). Vulnerability to global environmental change in natural systems and rural areas: A question of latitude? En: J.X. Kasperson y R.E. Kasperson (eds.). *Global environmental risk*. United Nations University Press, Tokio, 217-246.
- Ezcurra, E., Ortiz, S., Soberon-Mainero J. 2002. Evidence of Gene Flow from Transgenic Maize to Local Varieties in Mexico. En: Roseland Craigh (ed.), *LMOS and the environment: Proceedings of an International Conference, November 27-30, 2001, Raleigh, NC, USA*. OECD, Paris, France: 289.
- Heinemann, J., Kurenbach, B., Quist, D. (2011). Molecular profiling-a tool for addressing emerging gaps in the comparative risk assessment of GMOs. *Environment International Vol. 37, No. 7, 1285-1293*.

- Kiddle, G., Hardinge, P., Buttigieg, N., Gandelman, O., Pereira, C., McElgunn, C.J., Rizzoli, M., Jackson, R., Appleton, N., Moore, C., Tisi, L.C. Murray, J. (2012). GMO detection using a bioluminescent real time reporter (BART) of loop mediated isothermal amplification (LAMP) suitable for field use. *BMC Biotechnology*, 2012, 12:15
- Lakshminarayan, M.I., Kumpatla, S.P., Chandrasekharan, M.B., Hall, T. (2000). "Transgene silencing in monocots. *Plant molecular biology*, núm. 43, 323-346.
- Louette, D. and Smale, M., (2000). Farmer's seed selection practices and traditional maize varieties in Cuzalapa, Mexico. En *Euphytica*, vol. 113, 25-41.
- Mercer, K.L. and Wainwright, J.D., (2008) Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: an analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Vol. 126, 109-115.
- Mertens, M. (2008). *Assessment of Environmental Impacts of Genetically Modified Plants*. Germany, Bundesamt für Naturschutz
- Nadal, A. *Evaluación de los efectos ambientales de Tratado de Libre Comercio en América Latina. El maíz en México*.
- National Research Council, (1989) *Field testing genetically modified organisms: framework for decisions*. National Academy Press, Washington D.C. USA.
- Nature Editorial. (2010). How to feed a hungry World. *Nature*, vol. 466 No. 7306, 531.
- Ortiz-García, S., Ezcurra, E., Schoel, B., Acevedo, F., Soberón, J., Snow, A., (2005) Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004), En *PNAS*, vol. 102, núm. 35, 12338-12343.
- Piñeyro-Nelson, A., van Heerwaarden, J., Perales, H., Serratos, J., Rangel, A., Hufford, M., Gepts, P., Garay-Arroyo, A., Rivera-Bustamante, R., Álvarez-Buylla, E.R. (2009^a). Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Molecular Ecology*, vol. 18, núm. 4, 750-761.
- Piñeyro-Nelson, A., Van Heerwaarden, J., Perales, H.R., Serratos-Hernández, J.A., Rangel, A., Hufford, M.B., Gepts, P., Garay-Arroyo, A., Rivera-Bustamante, R. and Álvarez-Buylla, E.R. (2009^b). Resolution of the Mexican transgene detection controversy: Error sources and scientific practice in commercial and ecological contexts. *Molecular Ecology* 18, 4145-4150

- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2011). *Convenio sobre la Diversidad Biológica. "Orientaciones para la evaluación del riesgo de los organismos vivos modificados*.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2012). *Convenio sobre la Diversidad Biológica. "Third meeting of the Ad hoc Technical Expert Group on Risk Assessment and Risk Management of Living Modified Organisms (BSRARM 3)"*. <http://bch.cbd.int/protocol/meetings/documents.shtml?eventid=4736>.
- Quirasco, M., Schoel, B., Chhaliyil, P., Fagan, J. and Galvez, A., (2008). Real-time and conventional PCR detection of Liberty Link® rice varieties and transgenic soy in rice sampled in the Mexican and American retail markets. *Anal Bioanal Chem*, vol. 392, 395-404.
- Quist, D., Chapela, I., (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature*, vol. 414, 541-543.
- Rissler J., Mellon M., (1993) *Perils amidst the promise*. Union of Concerned Scientists, Cambridge Mass. USA.
- Rissler J., Mellon M. (1996) *The Ecological Risks Of Engineered Crops*. MIT Press, Cambridge Mass. USA.
- Rodríguez-Lázaro, D., Lombard, B., Smith, H., Rzesutka, A., D'Agostino, M., Helmuth, R., Schroeter, A., Malorny, B., Miko, A., Guerra, B., Davison, J., Kobilinsky, A., Hernández, M., Bertheau, Y., Cook, N. (2007). Trends in analytical methodology in food safety and quality: monitoring microorganisms and genetically modified organisms. *Trends in Food Science and Technology*, vol. 18, núm. 6, 306-319.
- Rojas Villegas, S.E. (2011). *Informe de actividades 2011 y retos 2012*. Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente modificados (CNRDOGM).
- Serratos-Hernández JA, Gómez-Olivares JL, Salinas-Arreortua N, Bueñdía-Rodríguez E, Islas-Gutiérrez F, de-Ita A. (2007). Transgenic proteins in maize in the Soil Conservation area of Federal District, Mexico. *Frontiers in Ecology and the Environment*, vol. 5, 247-252.
- Snow, A., (2009). Unwanted Transgenes Re-Discovered in Oaxacan Maize. *Molecular Ecology*, vol. 18, núm. 4, 569-571.
- Tiedje J.M., R.K. Colwell, Y.L. Grossman, R. Hodson, R.E. Lenski, R.N. Mack, P.J. Regal, (1989) The planned introduction of genetically modified organisms: Ecological considerations and recommendations. *Ecology* 70: 298-315.

Tripathi, L., (2005). Techniques for detecting genetically modified crops and products. *African Journal of Biotechnology*, vol. 4, núm. 13, 1472-1479.