

Artículo de Investigación

DETECCIÓN DE GENES P35S Y Tnos POR PCR EN TIEMPO REAL EN MAÍZ CULTIVADO EN EL SALVADOR

Detection of P35S and Tnos genes by Real-Time PCR in maize cultivated in El Salvador

Emerson Pocasangre¹
Fidel Omar Mendoza Ramírez²

Recibido 15/02/2024

Aceptado 11/07/2024

RESUMEN

El maíz es uno de los alimentos más consumidos a nivel mundial, por lo que ciertas áreas de la ciencia han creado métodos para poder modificar genéticamente con transgenes este alimento y obtener mayor beneficio de consumo y económico. Se estudiaron 2 tipos de maíz en los que se buscaron los 2 transgenes diana por medio de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real. El estudio de organismos genéticamente modificados (OGM) es muy escaso en El Salvador. Objetivo: identificar transgenes por PCR en tiempo real en maíz cultivado en El Salvador en el año 2023. Metodología: se utilizaron kits de extracción para organismos genéticamente modificados y de amplificación con sondas Taqman de la marca Thermo Fisher Scientific y un termociclador de PCR en tiempo real MyGo Mini S. Se realizó un estudio cuantitativo, descriptivo, transversal. Se tomaron muestras de maíz de los 14 departamentos que cumplieran los criterios de inclusión, recolectando 112 muestras, escogiendo las milpas por conveniencia. Se extrajeron 75 gramos de cada mazorca para extraer el ácido desoxirribonucleico y se purificó para posteriormente realizarles una PCR en tiempo real para la amplificación de los genes P35S y Tnos. Resultados: se obtuvieron 24 muestras que dieron positivas para ambos transgenes. Los datos obtenidos del Ct (umbral de ciclo, cycle threshold) para el gen P35S fueron: media de 31.60, dato mínimo 24, dato máximo 42. Para el Tnos: media de 32.74,

¹ Jefe de Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Evangélica de El Salvador. Máster en Microbiología e Inocuidad de Alimentos.
emerson.pocasangre@uees.edu.sv, <https://orcid.org/0000-0002-7488-6241>.

² Docente titular e investigador de Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Evangélica de El Salvador. Diplomado en Investigación Científica.
fidel.mendoza@uees.edu.sv, <https://orcid.org/0009-0003-3921-1681>

dato mínimo 27, dato máximo 40 Conclusión: los transgenes amplificados se encuentran presentes en el maíz cosechado en El Salvador.

Palabras clave: transgenes, gen Tnos, PCR en tiempo real, organismos modificados genéticamente, El Salvador

ABSTRACT

Maize is one of the most consumed foods worldwide. For this reason, certain areas of science have created methods to be able to genetically modify this food with transgenes and obtain greater consumption and economic benefits. Two types of maize were studied in which the two target transgenes were searched for by means of real-time polymerase chain reaction (PCR). The study of genetically modified organisms is almost non-existent in our country. Objective: To identify transgenes by real-time PCR in maize grown in El Salvador in 2023. Methodology: Extraction kits for genetically modified organisms, amplification kits with Thermo Fisher Scientific Taqman probes and a MyGo Mini S real-time PCR thermocycler were used. A quantitative, descriptive, cross-sectional study was carried out. Maize samples were taken from the 14 departments that met the inclusion criteria, 112 samples were collected, choosing the maize fields by convenience. 75 grams were extracted from each ear of maize to extract the deoxyribonucleic acid and it was purified to subsequently perform real-time PCR for the amplification of the P35S and Tnos genes. Results: 24 positive samples were obtained for both transgenes. The data obtained from the Ct (cycle threshold) for the P35s gene were: mean of 31.60, minimum data: 24, maximum data: 42. For Tnos: mean of 32.74, minimum data: 27, maximum data: 40 Conclusion: Amplified transgenes are present in maize harvested in El Salvador.

Keywords: transgenes, Tnos gene, real-time PCR, genetically modified organisms, El Salvador

INTRODUCCIÓN

La poca información que se tiene de transgenes en alimentos en El Salvador no es actualizada, por lo que esto fue un incentivo para poder realizar esta investigación y amplificar los transgenes P35S y Tnos. El primero de estos genes posee una secuencia que actúa como promotora para la inserción de múltiples genes adicionales que le proporcionan propiedades diversas a los cultivos según su naturaleza. El gen Tnos es

uno de los que permiten confirmar si hay cultivos portadores de transgenes.

El maíz es uno de los alimentos que más ha sufrido modificaciones a lo largo de la historia y se ha cultivado desde la antigüedad. Hay registros de los primeros cultivos que yacen desde aproximadamente 10 000 años, razón por la que históricamente se ha considerado un alimento esencial para la humanidad a nivel mundial. El maíz se cultiva en todo el mundo, sin embargo, en Latinoamérica, países como México se han caracterizado por ser líderes en

la producción y la exportación de este grano, siendo denominado “La cuna del maíz”. En la economía global representa un porcentaje significativo para los ingresos de los países productores y también es muy relevante por su alto valor nutricional.(1,2)

Por los diversos cambios del clima, variaciones en los cultivos, entre otros factores, ha surgido la necesidad de implementar nuevos avances en la bioingeniería para modificar o incluir nuevos genes de otros organismos y otorgarle al maíz características nuevas como resistencia a las sequías, a ciertas plagas por insectos o gusanos, a herbicidas y desencadenar un mayor rendimiento que es beneficioso para los productores, aumentando su rendimiento en quintales por manzana de terreno. En este contexto, El Salvador tiene la necesidad de hacer un diagnóstico a nivel del territorio nacional de la presencia de transgenes en cultivos y este país tiene la peculiaridad que cosecha su propia semilla y la distribuye a nivel nacional a través del programa “Paquetes agrícolas”, que es una forma de cómo el gobierno ayuda a los agricultores a cosechar semillas con altos estándares de calidad.(3)

Hay efectos que tienen objetivos específicos y están restringidos a algunas especies de plagas, ya que actúan como mecanismos especiales en cuanto a la acción de algunas proteínas específicas que cumplen función de insecticida. Este mecanismo tiene la capacidad de ser muy selectivo, por ejemplo, las proteínas Bt sólo cumplen su acción sobre las células intestinales de las larvas de los lepidópteros. Los receptores son únicos y estas proteínas actúan de forma que se adhieren sobre ellos para ejercer su acción letal; estos no están presentes en otras especies animales, como por ejemplo mamíferos, aves, etc., por lo tanto, no son un riesgo a la salud de los mismos.(4)

Parte de la población en Latinoamérica no está de acuerdo en el consumo de alimentos con organismos genéticamente modificados (OGM). Para nuestro país es de mucha importancia tener datos locales sobre la presencia de OGM, por lo que se efectuó la detección de los transgenes en estudio, para luego confirmar su presencia en nuestro país mediante una técnica con alta sensibilidad y especificidad, como lo es la PCR en tiempo real. El presente artículo es de mucha ayuda, ya que no hay información nacional actualizada sobre un monitoreo de OGM, el cual proporciona datos científicos sobre la detección de los transgenes *P35S* y *Tnos* en un alimento indispensable para nuestra población.

En un estudio realizado en el 2012 en Michoacán, México, se menciona que no hubo fabricación de semillas transgénicas de ciertos alimentos. Sin embargo, se encontró en ese estado el genotipo *Tnos* en maíces cosechados en esa fecha. Dicha detección se hizo por medio de la amplificación del transgén utilizando una técnica molecular PCR en tiempo real, confirmando que sí existe modificación en la secuencia genética de la semilla de maíz donde están involucrados los transgenes *P35S* y *Tnos*; en México se han hecho muchos esfuerzos y hay preocupación de no conocer con certeza si el maíz de origen nativo que ellos producen puede ser dañado o tener un grado de contaminación con transgenes.(5) La introgresión maíz-teocintle no ocurre o es leve, ya que conforme el tiempo se ha ido adaptando a los cambios climáticos y a otros factores beneficiosos. Entonces, el flujo génico del maíz transgénico al nativo sería más extenso e importante que el que ocurriría hacia el teocintle. En este estudio se encontró una positividad del 41.6 % de las muestras de maíz subsidiado y del 57.1 % en muestras de maíz no subsidiado para ambos genes.



Otro estudio realizado en el 2015 en Irapuato, México, hace una referencia de cómo poder efectuar la detección de transgenes por medio de la identificación de la proteína promotora de la secuencia genética del transgén en maíz y la proteína terminadora, cuyas características en las mazorcas se resaltaba por tener un número mayor de filas de granos, mayor tamaño y resistencia a plagas.(6) En el presente estudio se realizó un proceso de extracción de ADN purificado en muestras de mazorcas que tenían estas características, que si bien es cierto no era el propósito del estudio (descripción de mazorcas), pero se podían diferenciar características comunes en un tipo de maíz específico de una muestra proveniente de una fuente subsidiada y de una no subsidiada, en la cual la diferencia era que las no subsidiadas podían tener no solo transgén Tnos, sino una variedad amplia que le permite tener mejores cualidades. Posteriormente, en el análisis molecular se identificó la misma secuencia terminadora Tnos en muestras cosechadas tanto subsidiadas como sin subsidio. Por las características de las mazorcas, podemos sospechar la presencia de genes asociados a OGM, sin embargo, no hubo interferencia a la hora de amplificar por PCR en tiempo real, ya que se amplificaron los dos transgenes.

El objetivo de la investigación fue detectar los transgenes P35S y Tnos en maíces cosechados en El Salvador en el año 2023.

METODOLOGÍA

Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, fue de tipo descriptiva, la secuencia fue temporal, de tipo transversal y retrospectivo.

Las unidades que se tomaron para poder realizar el análisis fueron las muestras de maíces de los 14 departamentos del país en sus dos modalidades de subsidiado y no

subsidiado, las cuales se recolectaron por los investigadores en todo el territorio nacional.

El muestreo fue probabilístico, es decir, se contó con la probabilidad de confirmar la presencia de transgenes, ya que se revisó previamente la información de los fabricantes de semillas de maíz no subsidiado que declararon las mejoras esperadas en el maíz cultivado, sin embargo, las etiquetas no declaran si son portadores de GMO. Este tipo de maíz se distribuye a nivel nacional, por lo que el método que se utilizó para la selección de las muestras fue probabilístico.

La amplificación se realizó utilizando la PCR en tiempo real para la detección de secuencias utilizadas para la elaboración de OGM, regiones muy particulares y específicas como la del transgén P35S derivado del virus del mosaico de coliflor (CaMV) con las siguientes secuencias:

CAMVP 35S-F (5'-GCCTCTGCCGACAGTGGT-3') y CAMVP 35S-R (5'-AAGACGTGGTTGGAACGTCTTC-3').(7)

Se seleccionó la hilera número 10 de mazorcas y se tomó la planta número 25, que fue de donde se tomó la muestra, cumpliendo los criterios de inclusión. Posteriormente, las muestras se embalaron en bolsas especiales y se llevaron para procesar.

Criterios de inclusión.

- Mazorcas provenientes de cultivos de agricultores que recibieron el beneficio de paquetes agrícolas.
- Mazorcas provenientes de cultivos de agricultores que no recibieron el beneficio de paquetes agrícolas.
- Cultivos con mazorcas en su última fase de crecimiento.

Luego se detalla cómo se procesaron y los pasos que se realizaron desde donde se obtuvo la muestra que proporcionaron los agricultores hasta la extracción de ADN purificado. En todos los pasos que se realizaron se tomaron



las precauciones necesarias para evitar contaminación y no obtener un dato erróneo o un falso positivo desde la recolección de las muestras.

A. Transporte de la muestra

Las muestras tomadas procedentes de los sembradíos fueron embaladas en bolsas especiales de manera individual, se recolectaron las mazorcas y fueron registradas con su respectiva ficha, se trasladaron al laboratorio de microbiología del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Evangélica de El Salvador, donde se procedió a realizar el procesamiento de las muestras y la extracción de ADN purificado; posteriormente se realizaron las corridas en tiempo real y se evaluó la presencia de transgenes de las semillas de la mazorca de maíz.

Se realizó la extracción de ADN purificado de las muestras de maíz de los sembradíos y se procesaron en el laboratorio de microbiología de la Universidad Evangélica de El Salvador. La técnica que se empleó para la extracción del material genético fue por medio de la utilización de columnas de sílica gel. Se procedió a la amplificación de los transgenes por medio de la técnica de PCR en tiempo real.

B. Procesamiento de la muestra

El procedimiento de la muestra inició con ordenar las muestras de maíz codificadas desde el momento de su recolección para la posterior trituración de las semillas de maíz; se colocó papel especial en un pistilo, plástico especial en el mortero y pistilo para la trituración de cada muestra y así poder realizar la extracción de ADN purificado.

C. Extracción de ADN

A. Extracción y purificación de ADN.

De cada mazorca se extrajeron en promedio 75 granos de maíz y se pesaron un total de 20 gramos de cada muestra. Se colocó una pieza

de papel encerado sobre el mortero donde se colocaron los granos de maíz, sobre esto otra pieza de papel encerado cubriendo la muestra para posteriormente triturar con el pistilo que previamente fue forrado con plástico para alimentos y cambiado por cada muestra procesada. Como resultado, se obtuvo un material homogéneo de cada muestra.

- El resultado de este proceso se colocó en un tubo Falcon de 50 ml y se le agregó 30 ml de buffer de lisis #1.
- Se agregaron 20 μ l de ARNasa a la mezcla con tampón de lisis #1.
- Se taparon los tubos y se incubaron a 65 °C durante 30 minutos.
- Posteriormente, se centrifugaron a 3500 revoluciones por minuto durante cinco minutos y se transfirieron 385 μ l del sobrenadante a un tubo Eppendorf de 1.5 ml. Algunas muestras se tuvieron que centrifugar dos veces.
- Se añadieron 25 μ l de proteinasa K, se mezcló en agitador Vortex y se incubó a 56 °C durante una hora.
- Se añadieron 400 μ l de tampón de lisis #2, se mezcló en agitador Vortex y se incubó a 70 °C durante 10 minutos.
- Se añadieron 420 μ l de etanol absoluto y se mezcló en agitador Vortex.
- Después se procedió a lavar el ADN.

B. Lavados de ADN.

Primero, se eliminaron los precipitados que se formaron tras la adición de etanol absoluto con una micropipeta.

- Se transfirieron 600 μ l del sobrenadante a un conjunto de columna filtrante de ADN con un tubo de recogida y se procedió a centrifugar a 11 000 revoluciones por minuto durante un minuto.
- Se desarmó la columna con el tubo de recogida y se desechó el líquido. Se volvió a colocar la columna en el tubo,



añadiendo el resto de la muestra siempre con una micropipeta y centrifugando nuevamente a 11 000 revoluciones por minuto durante un minuto.

- Se desechó el tubo de recogida y se insertó la columna en un tubo nuevo; posteriormente, se añadieron 500 µl de tampón de lavado #1 centrifugando a 11 000 revoluciones por minuto durante un minuto.
- Se procedió a desechar el líquido de los tubos colocando nuevamente la columna en el mismo tubo; posteriormente, se añadieron 600 µl de solución amortiguadora de lavado 2, después se centrifugó a 11 000 revoluciones por minuto durante un minuto.
- Se desechó el líquido del tubo, armando nuevamente la columna en el tubo y centrifugando de nuevo a 11 000 revoluciones por minuto durante un minuto, finalizando con el descarte del líquido del tubo. Se procedió inmediatamente a eluir el ADN.

C. Elución del ADN.

Se introdujo la columna de filtrado de ADN en un tubo Eppendorf de 1.5 ml.

- Se añadieron 100 µl de agua libre de nucleasas calentada previamente a 70 °C y enfriada a temperatura ambiente durante tres minutos.
- Se centrifugó a 11 000 RPM durante un minuto para eluir el ADN.
- El ADN purificado se colocó en el tubo Eppendorf de 1.5 ml, con el cual se procedió a realizar la búsqueda y amplificación de posibles transgenes objetivo de la PCR en tiempo real.

D. Preparación del máster mix (Tabla 1).

Se configuró el termociclador de PCR en tiempo real con los protocolos de

amplificación para la búsqueda de organismos genéticamente modificados de la siguiente manera, basados en las siguientes condiciones de la PCR en tiempo real: una desnaturalización inicial de 95 °C por 10 minutos, luego 50 ciclos con una desnaturalización de 95 °C por 15 segundos y un anillamiento con extensión de 60 °C por un minuto cada uno.

Para la preparación del máster mix de cada muestra de ADN extraído y la amplificación de los genes de interés, se procedió de la siguiente manera:

- Se descongelaron las mezclas de cada uno de los genes en estudio por 5 minutos junto a las muestras de ADN en estudio.
- Posteriormente, se combinaron en agitador Vortex y se resguardaron en racks con función de pingüinos.
- Se rotularon siete tubos para PCR en tiempo real para cada muestra con el nombre de los objetivos de PCR. Se procedió con una micropipeta a llenar los tubos, tomando en cuenta los colores de cada reactivo del *TaqMan GMO Screening Kit* de la siguiente manera:
 - TNOS máster mix (disco azul).
 - Control positivo mix (disco verde).
 - General máster mix (disco blanco).
 - Control negativo (máster mix con agua libre de nucleasas).
 - ADN en estudio.
- Se preparó la mezcla de reacción para cada serie de PCR, con el número de muestras y reacciones de control, más el 10 % del excedente.
- Se mezcló bien mediante agitación vertical en Vortex y se distribuyeron 20 µl de cada solución en su respectivo tubo de reacción (7.5 µl de cada *primer* más 12.5 µl de máster mix).
- Se agregaron 5 µl de ADN de la muestra de maíz.

- Se selló cada tubo, se mezclaron y luego se centrifugaron brevemente para llevar el contenido al fondo en una microcentrifugadora mediante un *spin*.
- Se cargaron los tubos ejecutando los protocolos de PCR en tiempo real para la amplificación de los genes objetivo de PCR.

Tabla 1.
Preparación del máster mix.

#	Contenido	Objetivo de PCR		
		<i>Tnos</i>	Control positivo	ADN en estudio
1	<i>Tnos</i>	7.5 µL	-----	-----
2	Control positivo	-----	-----	7.5 µL
3	Máster mix	12.5 µL	12.5 µL	12.5 µL
4	ADN en estudio	5 µL	5 µL	5 µL
	Volumen total por cada tubo	25 µL	25 µL	25 µL
5	Control negativo con agua libre de nucleasas	25 µL	25 µL	25 µL

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para un mejor análisis de los resultados de las muestras de maíz recogidas a nivel nacional y que resultaron positivas, se agruparon en 4 regiones: occidental (Santa Ana, Ahuachapán

y Sonsonate), central (La Libertad, Chalatenango y San Salvador), paracentral (Cabañas, La Paz, Cuscatlán y San Vicente) y oriental (San Miguel, Usulután, Morazán y la Unión) (ver Tabla 2).

Tabla 2.
Total de muestras tomadas a nivel nacional.

Zona	Maíz subsidiado	Maíz no subsidiado	Porcentaje de muestras por zona
Occidental	20	4	21.43 %
Central	16	8	21.43 %
Paracentral	26	6	28.57 %
Oriental	22	10	28.57 %
Total	84	28	100 %

La mayor cantidad de muestras correspondieron a maíz subsidiado, sin embargo, el maíz no subsidiado tiene una considerable aceptación por los agricultores, ya que les permite completar la siembra en los terrenos y obtener la cantidad de mazorcas proyectadas.

Las muestras de ADN se corrieron en dos ocasiones porque la amplificación de los transgenes se realizó por separado. A pesar que las muestras de maíz no subsidiado fueron considerablemente menos, se encontró en ellas una mayor presencia de transgenes. Los valores para ambos fueron iguales porque en un OGM uno complementa al otro (Tabla 3).

Tabla 3.
Porcentaje de presencia de los transgenes P35S y Tnos en las mazorcas estudiadas.

Zona	Maíz subsidiado	Maíz no subsidiado
Occidental	30 %	50 %
Central	31.25 %	75 %
Paracentral	15.38 %	50 %
Oriental	18.18 %	50 %

El valor del Ct (*cycle threshold* o umbral de ciclos) para los transgenes amplificados en las muestras de maíz se repitió mucho en todas las muestras por los pares de bases que no diferían mucho entre todas las muestras que se amplificaron, el cual osciló para el gen P35S en un valor mínimo de 24, máximo de 42 y con una media de 31.60. En cuanto al Tnos, los valores fueron similares: un Ct mínimo de 27, máximo de 40 y con un valor de media de 32.74.

Los resultados expresados en las tablas anteriores contienen datos específicos por departamento donde reflejan el código de las muestras que resultaron positivas reiterando el anonimato de los agricultores, el nombre del gen que se amplificó y su respectivo Ct. Esto permitió efectuar un mejor análisis e interpretar de mejor manera los resultados, ya que hubo una detección mayor en ciertas zonas del país.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. Análisis de los resultados de la zona occidental

La detección del gen P35S y Tnos fue del 100 % en los departamentos que pertenecen a la zona occidental. Al separar las muestras en los 2 tipos de maíz en estudio, estas reflejaron un porcentaje del 20 % de muestras positivas en maíces subsidiados y un 4 % de positividad en maíces no subsidiados. Al final del estudio se pudo observar que a las muestras del primer tipo de maíz (subsidiado) se les amplificaron ambos transgenes y otras resultaron negativas.

De igual manera, en el segundo tipo de maíz (no subsidiado) se obtuvieron muestras a las cuales se les amplificaron los genes diana y otras que resultaron negativas. El porcentaje de positividad no fue el mismo en los 3 departamentos, sin embargo, se pudo confirmar la presencia de maíz portador de transgenes en sus 2 tipos.

Todos los agricultores manifestaron que sembraron sus semillas (independientemente subsidiada o no) y cultivaron las mazorcas bajo condiciones muy similares: preparación de la tierra, depósito de la semilla, riego, abono, entre otros. Sin embargo, no hubo ningún control sobre el terreno, específicamente en llevar un registro sobre el tipo de semilla o cultivo que se sembró previamente en ese mismo lugar, ya que hay terrenos que son arrendados a terceros, quienes al terminar su producción entregan nuevamente el derecho de dichas tierras. Por lo tanto, la positividad en muestras de maíz subsidiado se debe a múltiples factores, dentro de los cuales destaca una contaminación cruzada de la semilla sembrada en tierras donde ha habido cultivos (no exclusivamente maíz) portadores de este tipo de genes y la característica es que tiene una marca específica de maíz Herculex I en cuanto a la resistencia contra la plaga *Spodoptera frugiperda*, lo que provoca la incorporación de las secuencias genéticas modificadas al genoma original de la semilla no modificada.(8) Los motivos para modificar las semillas son diversos, así como las secuencias utilizadas. En el estudio de Trejo-Saavedra et al. (2015), es mencionado que el gen terminador Tnos es uno de los que dan la certeza de que este alimento está genéticamente modificado.(6) Fue obligatoria la detección de este gen en las muestras tomadas para confirmarlas como portadoras de OGM; esto se cumplió con las muestras que se procesaron en este estudio, ya que se comprobó por PCR en tiempo real que independientemente fuera maíz subsidiado o no, hubo amplificación de los genes en cuestión. La presencia de estos transgenes puede indicar cualquier tipo de mejora en el cultivo o inclusive en un producto o alimento procesado. En el caso del maíz, este tipo de material genético se ha introducido para brindar cualidades a la semilla: resistencia a

sequías, elaboración de toxinas que destruyen plagas y no se infecten, así como también un mayor rendimiento de los sembradíos.(6,9)

B. Análisis de los resultados de la zona central

El comportamiento de los resultados de las muestras en esta zona fue muy particular, ya que se obtuvo un 31 % de positividad en maíz subsidiado y un 75 % de positividad en muestras de maíz no subsidiado, sin embargo, las muestras del primer tipo de maíz representan una cantidad considerable de positividad de portación de OGM (debe recordarse que es un producto agrícola proveniente de una semilla híbrida certificada a nivel nacional). El fenómeno que se repitió en esta zona, al igual que en la occidental, es que no se pudo dar trazabilidad a la fuente de origen de las semillas ni de los cultivos que se sembraron previamente en las tierras (existe posibilidad que el antecesor que cosechó en los terrenos plantara algún tipo de hortaliza o grano que haya tenido transgenes, aunque esto no se pudo verificar por ninguna fuente confiable; debido a esos parámetros, podría existir contaminación de las mazorcas que se estudiaron).

La investigación del origen de una contaminación con transgénicos en alimentos es una tarea muy ardua porque en la zona central tiende a tener un mercado más amplio, no solo el más grande de nuestro país, sino también informal, porque recibe productos del todo el interior de la república, así como también semillas importadas que al no tener una ley reguladora de transgenes habría la posibilidad de que porten OGM.

La tierra en que se cultivaron los maíces en estudio, al igual que en el occidente del país, puede estar contaminando no solo los cultivos de maíz, sino todo lo que se siembra a corto y mediano plazo en ese lugar; se tuvo como referencia un estudio para inferir sobre la



posible acumulación de transgenes en más de 50 razas nativas de maíz,(10) en la presente investigación se observó siempre la presencia de OGM independientemente del área geográfica de donde se tomó la muestras.

Cabe mencionar que no existen leyes que supervisen el etiquetado sobre el contenido de OGM para el maíz de El Salvador.

C. Análisis de los resultados de la zona paracentral

La detección de ambos transgenes fue del 100 % en los departamentos que pertenecen a la zona paracentral. Las muestras que se tomaron de los agricultores, ya estén adscritos o no al programa de subsidio, presentan una positividad del 15.38 % de los maíces subsidiados y un 50 % de positividad de maíces no subsidiados; positividad que en relación a la amplificación de los transgenes en estudio está altamente ligada a la contaminación cruzada. Es de mucha importancia mencionar que los genes identificados y los resultados que se obtuvieron serán de mucha ayuda para tener una base de datos a nivel nacional, ya que por el momento no hay datos actualizados en este

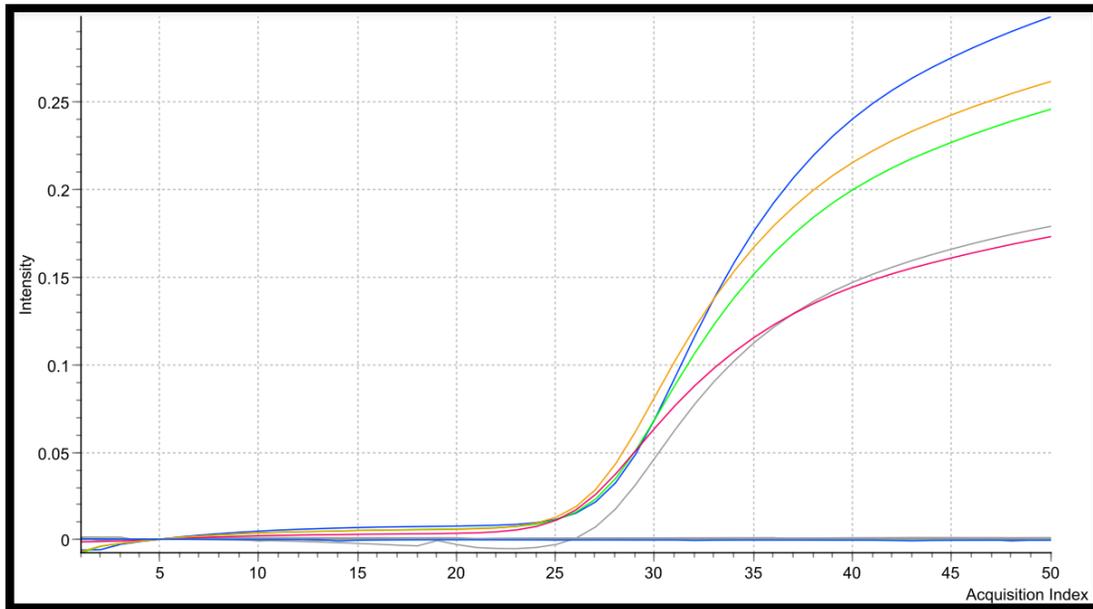
rubro y esta investigación será de mucha ayuda para los entes gubernamentales para tratar de crear leyes sobre este tema.

D. Análisis de los resultados de la zona oriental

La detección de los transgenes P35S y Tnos fue del 100 % en los departamentos que pertenecen a la zona oriental, donde se constató la positividad de maíces subsidiados, que fue de un 18.18 %; de igual manera, los maíces no subsidiados tuvieron una positividad del 50 %. El departamento de Morazán mantuvo una peculiaridad (Figura 1 y 2) con una tendencia de igualdad de positividad para ambos genes diana por cada muestra. Dentro de la misma dinámica de selección de agricultores hubo detección de OGM independientemente del departamento que se procesara, ya que por lo menos una muestra resultó positiva en ambos tipos de maíces por zona, eso hace pensar que los transgenes llegaron a nuestro territorio y no hay formas de como rastrearlos; se debe tener en cuenta que hay muy poca información acerca de estos transgenes y este tipo de investigaciones serán de mucha ayuda para otros investigadores.

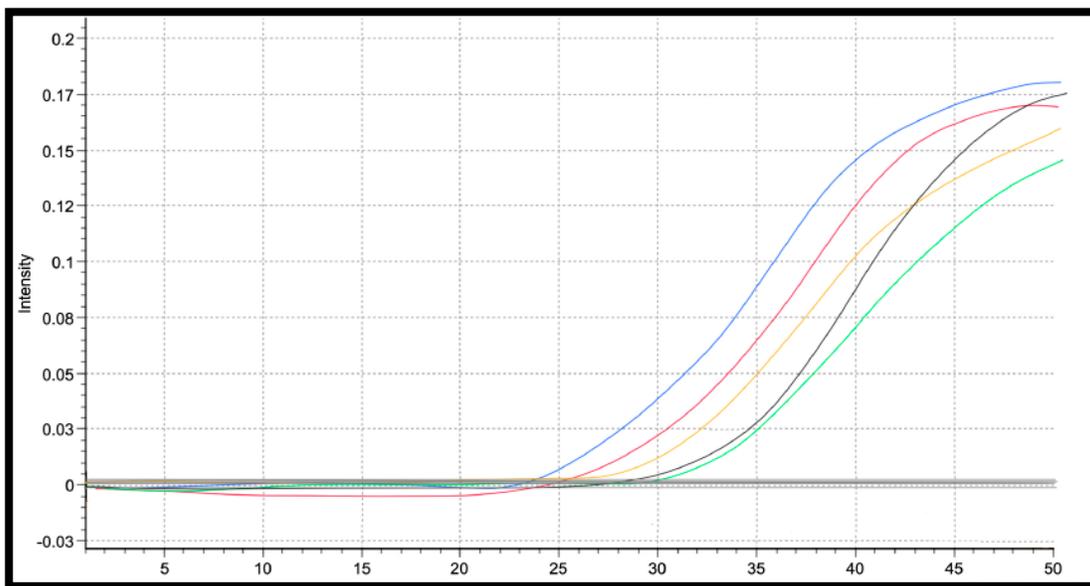


Figura 1.
Amplificación del gen P35S.



Nota. Software de termociclador MyGo Mini S: control positivo con color azul, el resto de colores corresponden a muestras positivas de ambos tipos de maíces del departamento de Morazán.

Figura 2.
Amplificación del gen Tnos.



Nota. Software de termociclador Mygo Mini S: control positivo con color azul, el resto de colores corresponden a muestras positivas de ambos tipos de maíces del departamento de Morazán.

CONCLUSIONES

Existe la presencia de cultivos de maíz transgénico a nivel nacional portadores de los transgenes P35S y Tnos amplificados por PCR en tiempo real.

La fabricación de semilla híbrida certificada como libre de OGM no es suficiente para garantizar que la producción de maíz del país será libre de transgenes, ya que en nuestro país circulan semillas de maíces portadores de OGM, lo que provoca una contaminación cruzada.

Existe una aceptación muy alta de la semilla de maíz subsidiado proporcionada por el Gobierno por parte de los agricultores, lo que ha sido demostrado en los resultados que reflejan su uso a nivel nacional.

En la zona central del país existe una mayor distribución de semilla de maíz portadora de transgenes, ya que es la zona de mayor comercio a nivel nacional.

El abastecimiento de semilla de maíz transgénica es de venta libre en nuestro país y no hay restricciones para poder venderla ni comprarla.

Uno de los motivos para poder abastecerse de este tipo de semilla es porque presenta relativa facilidad en su cosecha, mayor rendimiento, resistencia a sequías y protección contra algunas plagas.

RECOMENDACIONES

Continuar con el estudio de OGM en una mayor variedad de cultivos, además de los terrenos donde se cultivará la semilla y así descartar anticipadamente la probabilidad de una contaminación directa por cultivos previos.

Aumentar la cobertura del programa que beneficia a los agricultores con el abastecimiento de semilla libre de OGM.

Incrementar la búsqueda de otro tipo de transgenes y verificar si hay presencia de los que se sospecha que puedan causar daño.

Realizar un estudio en producto terminado para la detección de transgenes, ya que no solamente se puede encontrar en materia prima, y así tener datos nacionales en este tema y en este tipo de alimentos.

REFERENCIAS

1. Díaz-Pérez C, Arechavala-Vargas R, Huerta-Ruvalcaba J. El maíz transgénico en México. Percepciones regionales sobre su cultivo. Carta Económica Regional [Internet]. 2009 Ene-Abr;(101):71-88. Disponible en: <https://cartaeconomicaregional.cucea.udg.mx/index.php/CER/article/view/5549>
2. Paliwal RL, Granados G, Lafitte HR y Violic AD. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción [Internet]. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 2001. Origen, evolución y difusión del maíz [aprox. 8 p.]. Disponible en: https://www.fao.org/4/x7650s/x7650s03.htm#P0_0
3. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Economía Agropecuaria (SV). Programa Paquetes Agrícolas. 2019 Abr. 4 p. Disponible en: https://www.transparencia.gob.sv/descarga_archivo.php?id=Mjk4MjE4&inst=298218
4. Satorre EH. Manejo de Insectos en Maíz: Oportunidades y desafíos de la biotecnología para el manejo de *Diatraea saccharalis* (barrenador del tallo) y *Spodoptera frugiperda* (isoca del cogollo). 2014. 24 p. Disponible en: https://www.pioneer.com/CMRoot/international/argentina_intl/AGRONOMIA/Informe_talleres_manejo_Insectos_en_Maiz_Pioneer_2014.pdf

5. Ruíz-Maraver OJ. Monitoreo y Detección de maíz transgénico en el municipio Erongarícuaro, Michoacán [tesis de Licenciatura en Biología]. (MX): Universidad Nacional Autónoma de México; 2012. 130 p. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14330/TES01000686314>
6. Trejo-Saavedra DL, Rodríguez-Negrete EA, Rivera-Bustamante RF. Detección de transgenes en Organismos Genéticamente Modificados (OGM) y sus subproductos. Acta Universitaria [Internet]. 2015 Oct;25(3):24-39. Disponible en: <https://doi.org/10.15174/au.2015.906>
7. Waiblinger HU, Ernst B, Anderson A, Pietsch K. Validation and collaborative study of p35S and T-nos duplex real-time PCR screening method to detect genetically modified organisms in food products. Eur Food Res Technol [Internet]. 2008;226:1221-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0748-z>
8. Murúa MG, García Degano MF, Pereira MA, Pero E, Willink E, Gastaminza G. Eficacia en campo del maíz Herculex® I para el control de Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) en el Noroeste Argentino. Revista Industrial y Agrícola de Tucumán [Internet]. 2013;90(1):37-43. https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182013000100004
9. Espinosa-Calderón A, Turrent-Fernández A, Tadeo-Robledo M, San Vicente-Tello A, Gómez-Montiel N, Valdivia-Bernal R et al. Ley de semillas y ley federal de variedades vegetales y transgénicos de maíz en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas [Internet]. 2014 Feb-Mar;5(2):293-308. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000200010
10. Turrent- Fernández A, Serratos-Hernández JA, Mejía-Andrade H, Espinosa-Calderón A. Liberación comercial de maíz transgénico y acumulación de transgenes en razas de maíz mexicano. Revista Fitotecnia Mexicana [Internet]. 2009 Oct-Dic;32(4):257-63. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000400003

