

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA DE MUESTREO Y ANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN DE SECUENCIAS TRANSGÉNICAS EN TORTILLAS DE MAÍZ EN EL DISTRITO FEDERAL

Florencia Meza-Escamilla, Pável Castillo-Urueta, Magda Carvajal Moreno, Amanda Gálvez Mariscal*.

* Depto. Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito de la Investigación Científica s/n. Ciudad Universitaria. México D.F. 04510 MEXICO. Fax: (55) 5622-5305. galvez@unam.mx

Maíz GM, tortillas, RTQ-PCR, Distrito Federal

Introducción. México importa aprox. 8 millones de Ton de maíz por año desde Estados Unidos, donde cerca del 70% del maíz sembrado es genéticamente modificado (GM)¹. Ese país ha aprobado 24 variedades de maíz GM para la siembra y consumo humano y han desarrollado cruza con eventos de transformación simples para obtener las variedades, con dos o más características GM llamadas “stacked”, que no requieren autorización posterior por provenir de variedades aprobadas previamente. La Secretaría de Salud en México sin embargo sí la requiere: ha autorizado 23 variedades de maíz GM exclusivamente para consumo humano, 12 de ellas son “stacked”. El objetivo de este trabajo es desarrollar un método para la detección cualitativa y cuantitativa de secuencias transgénicas, y conocer su prevalencia en tortillas vendidas en el DF.

Metodología. Se establecieron seis puntos de compra al azar en cada delegación política del DF en supermercados y tortillerías. Se muestreó en épocas de riego y temporal. Se aplicaron cuestionarios para conocer el origen de la materia prima. Las muestras se deshidrataron y se molieron en condiciones suaves para evitar mayor daño al ADN. Se ensayaron diferentes métodos y kits de extracción: ABI Prism™ 6100 Nucleic Acid PrepStation (Applied Biosystems), DNAzol (Invitrogen), FastPrep Instrument (Q-Biogene) y Fast ID Genomic DNA Extraction. Se ensayaron y optimizaron por condiciones para cuantificar el promotor 35S por PCR tiempo real (RTQ-PCR)² en un equipo 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems) siguiendo la metodología descrita previamente³, utilizando primers para la detección de almidón sintasa como control de la reacción. Se extrajeron por duplicado 99 muestras y cada una de ellas se analizó por duplicado.

Resultados y discusión. En cinco de las delegaciones sólo el 38% de las muestras se adquirieron en supermercados y el resto en tortillerías. Más del 90% de las tortillas de supermercados utilizan harina de maíz industrializada y aprox. el 80% de las tortillerías, masa de nixtamal. El método de extracción de ADN que mostró una mayor pureza fue el kit FastID con una relación $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}} = 1.75$. Aunque la concentración promedio de ADN obtenida fue de 27 ng/μl, las reacciones de RTQ-PCR se desarrollaron sin interferencias atribuibles a los residuos de carbohidratos generados con los otros

métodos de extracción por efecto de la gelatinización del almidón. Las muestras se analizaron mediante RTQ-PCR usando 100 ng de ADN molde. El límite de cuantificación (LOQ) establecido previamente para ADN transgénico en tortillas es 0.1%^{2,3}. En dos muestras se cuantificaron valores de 10% y 0.2% de GM (Figura 1), provenientes de Tlalpan (harina industrializada) y Coyoacán (mezcla de masa de nixtamal y harina) respectivamente; ambas de supermercados. Dos muestras amplificaron a Ct = 36 y seis más a 37, encontrándose en concentraciones en el Límite de Detección (LOD>0.01%) o menores, sin lograr ser cuantificables.

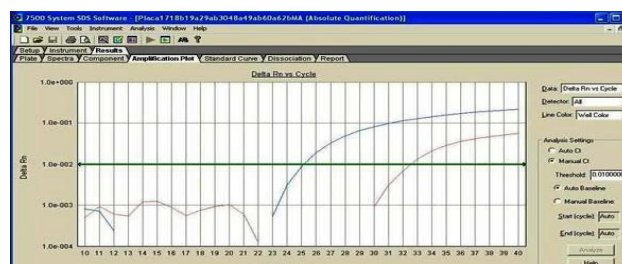


Fig. 1. RTQ-PCR. Ejemplo de la señal de amplificación del promotor 35S (Violeta Ct 33). Control positivo (Azul Ct 25)

Conclusiones. La presencia de maíz GM en tortillas muestreadas en el Distrito Federal se encontró en concentraciones menores al 10% en baja frecuencia (2/99 muestras) y 8/99 mostraron presencia de maíz GM por debajo de niveles cuantificables.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado por el programa PAIP No. 5490-05 de la FQ-UNAM.

Bibliografía.

- Gálvez, A. (2008). Detection and quantification of GM maize varieties in Mexican imports. *1st Global Conference on GMO Analysis*. Joint Research Centre European Commission. Como, Italy, 24-27 junio 2008.
- Quirasco, M.C., Schoel, B., Plasencia, J., Fagan, J. y Gálvez, A. (2004). Suitability of Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for cry9C Detection in Mexican Corn Tortillas: Fate of DNA and Protein after Alkaline Cooking. *JAOAC Int.* 87(3): 639-646.
- Sanjuán, A., Acatzi, A., Gálvez, A., Plasencia, J. y Quirasco, M.C. (2008). Análisis comparativo de técnicas de laboratorio para la detección y cuantificación de proteínas y ADN exógeno en maíz. *Informe Técnico Final del proyecto SEMARNAT-2004-C01-266*. Facultad de Química, UNAM.