



VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SECUENCIAS GENÉTICAMENTE MODIFICADAS EN MIEL MEDIANTE qPCR

José Luis Juárez Vargas, Aidé Jiménez Martínez, Ma. Guadalupe Barrera Andrade. Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados. Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera. Km 37.5 Carretera Federal México-Pachuca. Estado de México, Tecamac de Felipe Villanueva Centro, C.P 55740. juarez.joseluis@hotmail.com

Palabras clave: OGM, miel, qPCR.

Introducción. México es uno de los tres principales países que producen y exportan miel al mundo (1). La exigencia de controles para la exportación de productos relacionados con miel a la Unión Europea es cada vez más rigurosa. Existe la posibilidad de que las abejas recolecten polen genéticamente modificado (GM) y lo lleven al panal donde se elabora la miel (2), incorporando este ingrediente al producto. Esto pudiera ocasionar que se cierren los canales comerciales para la exportación de miel debido a la presencia de polen GM. Por ello, es necesario implementar una metodología confiable y veraz para el análisis de secuencias GM en este producto.

El objetivo del presente trabajo fue validar una metodología para la extracción de ADN genómico, la detección de secuencias GM y la cuantificación del evento MON-Ø4Ø32-6 en miel mediante PCR en tiempo real (qPCR).

Metodología. La estrategia experimental utilizada fue la realización de mezclas de harinas GM de soya con el evento MON-Ø4Ø32-6 y harina convencional de soya para obtener diferentes porcentajes (3). Se obtuvieron harinas con diferentes concentraciones del evento MON-Ø4Ø32-6, las cuales se agregaron a muestras de mieles caracterizadas previamente como libres de secuencias GM. La extracción de ADN se realizó mediante el método modificado de CTAB (4). Finalmente, se estandarizó la técnica de qPCR para conocer los límites de detección y cuantificación del evento MON-Ø4Ø32-6.

Resultados.

La estandarización de la extracción de ADN de polen de miel se realizó satisfactoriamente mediante el protocolo propuesto. Los ensayos de amplificación de diversos elementos de referencia (t-RNA, actina y genes endógenos) en las muestras de miel permitieron demostrar la confiabilidad del protocolo. Posteriormente, se estandarizó la detección de secuencias GM (P35S y t-NOS) de manera confiable. El límite de detección se estableció mediante la existencia de amplificación para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 para cada una de las mezclas generadas.

% Mezcla	1.0	0.5	0.1	0.05
% Detección	100	100	100	100

Tabla 1. Límite de detección para el evento específico MON-Ø4Ø32-6.

El límite de cuantificación se estableció mediante la interpolación de cada una de las mezclas generadas para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 dentro de una curva estándar (5).

% Mezcla	1.0	0.5	0.1	0.05
Cuantificación	Si	Si	Si	**
Promedio	1.15	0.59	0.11	0.048
S	0.0978	0.0586	0.0255	0.0810
U (RSD _{ID})	0.0244	0.0146	0.0063	0.0202
U combinada UC	18.100	18.100	18.100	18.100

Tabla 2. Límite de cuantificación para el evento específico MON-Ø4Ø32-6.

** El resultado para la mezcla de 0.05% es una extrapolación y no una interpolación debido a que ésta sale de los puntos de la curva estándar.

Conclusiones.

Se realizó la validación de extracción de ADN genómico de miel.

El ADN obtenido de la aplicación del protocolo de extracción es confiable para los ensayos de detección de secuencias GM

El límite de detección para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en la matriz de miel fue 0.05%.

El límite de cuantificación para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en la matriz de miel fue 0.1%

Agradecimiento. A todas la asociaciones apícolas nacionales que nos proporcionaron la miel para la realización de esta validación.

Bibliografía.

- Programa Nacional Pecuario SAGARPA 2007-2012.
- Vides Borrell E., Vanadame R. (2012) *Pecoreo de abejas *Apis mellifera* en flores de soya *Glycine max*. Reporte técnico, Colegio de la Frontera Sur, Departamento de Agricultura, Sociedad y Ambiente.*
- Van den Bulcke M., Matetovici I., Mazzara M. Van den Eede G., Kreyza J. (2012) *Verification Report on the Extraction and Analysis of GM Pollen DNA in Honey.* DOI: 10.2788/50503.
- Matetovici I. (2012) *Standard Operating Procedure DNA Extraction from honey and pollen- CTAB.* JRC.I3.S64B6/EURL.
- Mazzara M. Munaro B. Larcher S. Grazioli E. Delobel C. Savini C. Van den Eede G. (2007) *Events-specific for the Quantification of Soybean line 40-3-2 Using Real-time PCR; Validation Report and Protocol.* DOI: 10.2788/61824