

# **Aspectos Ecológicos, Biológicos y de Agrobiodiversidad de los Impactos del Maíz Transgénico**

Preparado por Elena R. Álvarez-Buylla, Laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas, Instituto de Ecología, UNAM

Para el Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte

Como parte de la Iniciativa del Artículo 13:  
Maíz y biodiversidad: efectos del maíz transgénico en México

*Los puntos de vista expresados en este trabajo son sólo del autor y no necesariamente corresponden con los del Secretariado de la Comisión para la Cooperación Ambiental los gobiernos de Canadá, Estados Unidos y México o el Grupo Asesor de la CCA.*

## RESUMEN EJECUTIVO

### **Estado del conocimiento: áreas de consenso**

#### **México como centro de origen y diversidad de maíz: estado actual de la biodiversidad en razas locales y teosintes silvestres.**

La planta de maíz es una *Graminae* anual, *Zea mays* ssp. *mays* L., y su grano es el que alcanza la mayor producción en el mundo. En México es el cultivo más importante por área sembrada (más de siete millones hectáreas en 2001) y el segundo en términos de producción gruesa (18.6 millones de toneladas en 2001, incluyendo un millón de hectáreas de maíz híbrido). México es el centro de origen y diversidad de las razas de maíz, con más de 60 razas reconocidas hasta ahora y muchas más subrazas y variedades locales. En México también crecen varios de los teosintes, parientes silvestres del maíz, entre los cuales se encuentra el ancestro putativo del maíz y el teosinte perenne. Varios de estos teosintes y razas de maíz se encuentran en peligro de extinción por cambios de uso del suelo recientes y degradación ambiental general. Su conservación es prioritaria independientemente del posible impacto de la introducción de transgénicos.

#### **Efectos de la liberación al ambiente de variedades transgénicas de maíz.**

En términos ecológicos, los riesgos hasta ahora más discutidos de la liberación de transgénicos al ambiente son los que se derivan del movimiento no intencional de los transgenes a poblaciones —de variedades tanto cultivadas como silvestres— para las cuales dichas transformaciones genéticas no fueron diseñadas. En el caso del maíz en México, los datos se resumen en dos aspectos fundamentales: (1) la posibilidad de introgresión (que los transgenes entren y persistan) de las variedades transgénicas hacia las razas de maíces locales o criollos y hacia los parientes silvestres del maíz que se encuentran en México, y (2) las consecuencias biológicas de esta introgresión.

#### **Flujo génico.**

El flujo génico de maíz a teosinte (*Z. m. ssp. mexicana*) ocurre a tasas bajas en cada generación, pero cuando las plantas crecen en proximidad, los alelos de los cultivos introgresan a las poblaciones de los parientes silvestres después de varias generaciones. También se ha documentado introgresión de caracteres genéticos de variedades mejoradas a nativas cuando ambas crecen incluso a distancias mayores de varios cientos de kilómetros. Por lo tanto, el flujo génico y la introgresión a variedades locales cultivadas y silvestres será difícil de evitar una vez que crezcan plantas transgénicas en los campos mexicanos. Además, los individuos de teosinte y maíz portadores de los transgenes pueden constituirse en puentes para la introgresión de los transgenes a nuevas variedades. Finalmente, el intercambio de semillas entre agricultores puede también hacer que las áreas en las cuales ocurra la introgresión sean mayores a las que se esperan por el flujo génico vía polen.

#### **Consecuencias del flujo génico**

##### *Persistencia de transgenes*

Una vez que ocurre el flujo génico, la permanencia de los transgenes dependerá de los efectos que tengan estos en la adecuación de los individuos como consecuencia de la expresión de los transgenes. Si estos efectos son neutrales, el transgén permanecerá en la población con una frecuencia que dependerá de la frecuencia del flujo génico. Si el transgén aumenta la adecuación de los individuos que lo portan, éste aumentará hasta fijarse, y si la disminuye, bajará en frecuencia hasta desaparecer. Se resumen los efectos esperados de la introgresión a variedades silvestres y nativas de maíz en México de los transgenes objeto de los desarrollos biotecnológicos desregulados hasta ahora en Estados Unidos.

### ***Generación de malezas por resistencia a herbicidas y plagas***

Para el caso particular del maíz, la introducción de resistencia a herbicidas y plagas podría ser problemática en sitios en donde el teosinte se considera maleza y se controla con el herbicida en cuestión o, de manera natural, por las plagas afectadas por la expresión del transgén. En ambos casos se espera la aparición de teosintes-malezas difíciles de controlar, y en ninguno se espera la evolución de malezas a partir de variedades de maíz.

### ***Esterilidad masculina***

No se espera ni permanencia ni consecuencias negativas producto de genes cuya expresión confiere esterilidad masculina al maíz.

### ***Erosión genética:***

En especies de polinización abierta, como el maíz, la recombinación aseguraría que los efectos detrimentales sobre la variabilidad genética producto de la introgresión de transgenes se restrinja a porciones del genoma sumamente pequeñas.

### ***Evolución de insectos resistentes y generación de nuevas plagas:***

Resulta claro que si ocurre el flujo no intencional de los transgenes que expresan la toxina Bt, que confiere resistencia a plagas de lepidópteros a poblaciones no sujetas a regulación, se pueden originar plagas de insectos que serán difíciles de controlar.

### ***Efectos no esperados:***

Se podrían presentar efectos no esperados tanto por la posibilidad de impactar especies que no son el blanco del desarrollo biotecnológico como por efectos pleiotrópicos. Para el primer caso se ha explorado el posible impacto de la toxina Bt en las larvas de mariposa monarca en México. Los resultados más recientes sugieren que el impacto será menor dados los niveles de exposición esperados. En el segundo caso se han registrado efectos pleiotrópicos de la expresión de la toxina en condiciones experimentales. En cualquier caso es recomendable monitorear los efectos de los transgénicos a largo plazo bajo las condiciones ambientales en las cuales se liberan.

## **Estado de conocimiento: áreas de debate**

### **México como centro de origen y diversidad del maíz: estado actual de la biodiversidad en razas locales y teosintes silvestres.**

Es importante resolver el debate en torno al número y las relaciones genealógicas de las razas de maíz para que el resultado sea referencia de cualquier análisis sobre el impacto de los transgénicos.

### **Efectos de la liberación al ambiente de variedades transgénicas de maíz.**

#### **Flujo génico:**

Se ha enfatizado el flujo de las variedades transgénicas a las silvestres, pero el flujo de cultivar transgénico a no transgénico es igualmente importante. A partir del artículo de Quist y Chapela (2001), publicado en *Nature*, se ha debatido la posibilidad de que hubiera ya introgresión a maíces criollos de Oaxaca. Datos recientes recabados por dos laboratorios mexicanos bajo encargo del INE y la Conabio sugieren la presencia de transgénicos en los genomas de razas locales colectadas de Oaxaca y Puebla. Pero son necesarios más experimentos para corroborar lo anterior.

#### **Consecuencias del flujo génico:**

Se debate ya la importancia de este tipo de efectos, pero es necesario recabar más información y desarrollar modelos para analizar los posibles impactos a largo plazo.

**Áreas con asuntos no resueltos y controvertidos: temas prioritarios en los que se necesita mayor investigación para mejorar el entendimiento de los riesgos que la biodiversidad reviste**

Resulta de altísima prioridad saber a ciencia cierta si ha ocurrido ya flujo génico e introgresión de transgénicos a variedades locales. Dado a que el flujo génico y la introgresión de variedades transgénicas a variedades locales de maíz que se usan para alimento humano o animal son claramente posibles, si no ya un hecho, es particularmente preocupante que pueda haber introgresión en variedades utilizadas para el consumo animal o humano por variedades creadas para producir sustancias industriales o fármacos. Estos desarrollos podrían afectar la seguridad alimentaria, de ahí que resulte prioritario evaluarlos y en su caso tomar medidas de contención o freno. Otros aspectos en los que resulta importante hacer más investigación por su posible impacto son: transferencia horizontal incluyendo la transferencia de la resistencia a antibióticos; acumulación en el ambiente de ADN desnudo, como posible desecho biotóxico, y posible inestabilidad genómica de los transgenes.

## 1 Estado del conocimiento: Áreas de consenso

La planta de maíz es una especie de pasto (familia: *Graminae*) anual, *Zea mays* ssp. *mays* L., que produce el grano de maíz (técnicamente, el fruto) en la infrutescencia femenina o mazorca. El maíz es un cultivo muy versátil que se destina al consumo animal y humano en bruto o procesado de múltiples maneras. La mayor parte de su producción se concentra en América y Estados Unidos, que es el mayor productor —aproximadamente, 40 por ciento de la producción mundial—, seguido de China, Brasil y México. En México, el maíz es el cultivo más importante por área sembrada (más de siete millones de hectáreas en 2001) y el segundo en términos de producción gruesa (18.6 millones de toneladas en 2001, incluyendo un millón de hectáreas de área sembrada de variedades de híbridos mejorados).

### 1.1 México como centro de origen y diversidad del maíz: estado actual de la biodiversidad en razas locales y teosintes silvestres

Toda evidencia arqueológica y biológica señala que el maíz se originó en México, quizás en el occidente del país (Benz, 1986) o en la cuenca del Balsas (Iltis, 1987; Doebley, 1990) hace entre 7,500 y 10,000 años (Wang *et al.*, 1999; Tenaillon *et al.*, 2001). México ha aportado al menos 50 razas de maíz adaptadas a diferentes condiciones climáticas y altitudes que van desde 0 hasta 2,700 msnm (Hernández-X., 1985; Sánchez, 1993; Iltis y Doebley 1980). Sin embargo, se considera que en México debe haber 60 o más razas de maíz nativas (B. Benz, comunicación personal), además de que a las razas principales se suma una gran cantidad de subrazas y variedades locales aún no bien caracterizadas.

Los teosintes o maíces silvestres tuvieron y tienen una función importante en la generación de esta variedad de razas de maíz en México (Welhausen *et al.*, 1952; Wilkes, 1972 y 1977; Hancock, 1992). En su mayor parte, los teosintes obedecen a las prácticas agrícolas tradicionales (Sánchez y Ordaz, 1987) y son reconocidos como los parientes silvestres más cercanos del maíz (Doebley e Iltis, 1980; Doebley, 1980). De hecho, a uno de los teosintes se le considera el ancestro del maíz: *Zea mays* subesp. *parviglumis* (Doebley, 1990; Iltis, 2000). Otro de los teosintes goza de particular importancia porque es perenne y puede ser la base para el mejoramiento de razas cultivadas que puedan permanecer y no tener que cultivarse cada año. Además de su importancia como ancestro del maíz o fuente de variabilidad genética para mejoramiento, el teosinte (*Zea mays* L. subsp. *parviglumis*; Iltis & Doebley) tiene un alto potencial como planta forrajera, en particular para la engorda de ganado vacuno y equino (Miranda *et al.*, 2001), aunque en la mayoría de los casos es una maleza. Representa un recurso estratégico sobre todo para la agricultura de subsistencia, que normalmente se lleva a cabo en suelos de mala calidad agrícola, propicios para el crecimiento de los teosintes. En la gráfica 1 se observa la distribución de razas locales de maíz y teosintes, así como los niveles de producción de maíz en México.

Muchas de las razas de maíz y la mayoría de las subespecies de teosinte se empiezan a considerar en peligro de extinción (Blancas, 2001; Sánchez, comunicación personal). El tamaño y la distribución de sus poblaciones se han visto afectadas por el cambio de uso del suelo, la agricultura intensiva y la urbanización (Wilkes, 1997; Sánchez y Ruíz, 1996). Por lo tanto, independientemente del posible impacto de la introducción de variedades transgénicas de maíz, la conservación de las razas mexicanas y de las especies de sus parientes silvestres es prioritaria, asunto de seguridad alimentaria para México y el resto del mundo, y depende de esfuerzos *in situ* y *ex situ*. A pesar de que se dispone de recolecciones considerables de las variedades de maíz en México, sabemos que hay razas no registradas. Por ejemplo, el CIMMYT cuenta con 8,264 colecciones de maíz, pero faltan al menos 2,000 para alcanzar la colección completa de las razas de maíz mexicano (Taba, comunicación personal). De teosintes hacen falta muchas más colecciones. Una buena fuente de información sobre el estado actual de la distribución, conservación en bancos de germoplasma y caracterización de la diversidad regional de teosintes de México se puede encontrar en Sánchez *et al.* (1998). Las variedades mejoradas representan ca. 24% de la diversidad genética de la diversidad genética de las razas locales de maíz en México (Tenaillon *et al.*, 2001 y 2002). Los patrones de diversidad genética poblacional para las razas de maíz y las poblaciones de teosinte asociado con estas razas se han estudiado muy poco (Blancas, 2001).

La biodiversidad de maíces cultivados y silvestres se relaciona con una diversidad de sistemas productivos que forman mosaicos, porciones de áreas naturales diversas que van desde bosques de coníferas en las zonas templadas hasta selvas altas perennifolias en las zonas cálido-húmedas. El grado de conservación de estos ecosistemas agrícolas y naturales es variable a lo largo del país y constituye el contexto ecológico en el que se habrán de evaluar los posibles impactos de la introducción de variedades transgénicas.

## **1.2 Efectos de la liberación al ambiente de variedades transgénicas de maíz**

La mayor parte de las discusiones sobre los efectos ecológicos de los transgénicos se centra en las características o atributos que se expresan en las plantas como resultado de la introducción de genes particulares por medio de la tecnología del ADN recombinante. Sobre todo se han discutido la posibilidad de que los transgenes no se puedan contener en las áreas aprobadas para su cultivo, el impacto ecológico de estos posibles escapes a zonas no planeadas y la introgresión o permanencia de los transgenes escapados en poblaciones de especies (silvestres o cultivadas) para las cuales no se desarrollaron originalmente.

En contraste, los riesgos ecológicos derivados del proceso de modificación genética por medio de técnicas de ADN recombinante se han discutido mucho menos. Estos riesgos se derivan de: (a) las incógnitas actuales sobre el proceso de transformación genética de plantas y animales, y (b) los efectos difíciles de predecir o inesperados de la liberación ambiental de animales o plantas transgénicas. Estos últimos efectos dependen de la complejidad espacio-temporal de los sistemas ecológicos. Son muchas las lagunas de conocimiento y muchos los puntos de debate con relación a estos dos aspectos. Por tanto, dejamos su discusión para la sección de puntos de debate y áreas por estudiar. A continuación discutimos los riesgos para la biodiversidad que se derivan de la expresión de los genes objetivo de los desarrollos biotecnológicos que se siembran en campos abiertos, en el caso de escapes de los transgénicos a sitios y especies no contemplados en el desarrollo inicial ni aprobados para su cultivo. Nos centramos en las posibles consecuencias para el maíz y las condiciones naturales de México de este flujo génico no deseado.

### **1.2.1 Flujo génico**

La dispersión de polen es diferente para cada especie cultivada o silvestre, pero dentro de una misma especie, la dispersión polínica de las plantas transgénicas es muy similar a la de sus contrapartes no transgénicas. En el caso de los transgénicos, la mayor preocupación es que los transgenes se incorporen en las poblaciones de parientes silvestres de los cultivos objeto de la biotecnología. En una revisión reciente (1999), Ellstrand y colaboradores presentaron evidencia clara y extensa de la ocurrencia de hibridación espontánea entre la gran mayoría de los cultivos y sus parientes silvestres. En algunos casos se documenta la producción de malezas, con consecuencias devastadoras, como producto de la hibridación (Ellstrand, 2001). La dispersión a largas distancias ocurre sólo con una pequeña fracción del polen producido. Sin embargo, el hecho de que una fracción del polen viaje distancias considerables hace que el aislamiento total sea una práctica casi imposible. Además, la progenie de plantas polinizadas de manera no intencional por variedades transgénicas puede servir de “puente” para transferir esos transgenes a otras variedades cultivadas o a sus parientes silvestres (National Academy of Sciences, 2002).

Es menor la evidencia de flujo entre cultivares (Ellstrand, 2001). Sin embargo, dada la evidencia resumida en el párrafo anterior, es posible esperar altas tasas de entrecruzamiento entre distintas variedades cultivadas de una misma especie. De hecho se dispone ya de varios casos documentados de flujo de transgenes a variedades para las cuales no fueron diseñados. Éste es el caso, por ejemplo, de la canola (Hall *et al.*, 2000). Estos casos y otros apuntan hacia el hecho de que la contención de transgénicos será prácticamente imposible una vez que se comercialicen o desregulen (Hodgson, 2002), a menos de que se desarrollen métodos muy eficientes para su contención.

El maíz es un grano de polinización abierta o fertilización cruzada (Frankel y Galun, 1977). Por lo

tanto, las distintas variedades de maíz locales y mejoradas (híbridos mejorados industrialmente) se pueden entrecruzar de manera natural entre sí y con sus parientes silvestres, los teosintes. En caso de crecer en cercanía, las variedades transgénicas podrían, de manera natural, polinizar y ser polinizadas por las variedades nativas y los maíces silvestres o teosintes. En este trabajo se resume la evidencia de este flujo génico para el maíz en México.

Los parientes silvestres más cercanos del maíz, los teosintes, agrupan a varias especies dentro del mismo género: *Zea* (Sánchez y Ruiz, 1996). La distribución de los teosintes en México se observa en la gráfica 1. La presencia de teosintes se extiende a Centroamérica, hasta Nicaragua (Sánchez y Ruiz, 1996, Serratos, en preparación). Es probable que algunas de las especies o poblaciones de teosintes se extinguieran por la introgresión del maíz (Small, 1984). La mayoría de los teosintes se pueden polinizar artificialmente y dar híbridos fértiles (Goodman, 1995); las cruza con *Z. m. ssp. mexicana* son más complicadas (Kermicle, 1997), y los híbridos de maíz con *Z. perennis* resultan estériles (Doebley, 1990). El maíz se puede incluso cruzar con especies de *Tripsacum* (Goodman, 1995), aunque esto no se ha documentado en condiciones naturales. En campos donde domina *Z. m. ssp. mexicana*, es común encontrar híbridos espontáneos (Wilkes, 1996, 1977). Análisis de aloenzimas en muestras de *Z. luxurians*, *Z. diploperennis*, y *Z. m. ssp. mexicana* sugieren niveles muy bajos de introgresión de maíz a estos teosintes (Doebley, 1990). Esta conclusión se apoya con datos del espaciador interno del ADN ribosomal (Buckler y Holtsford, 1996). En contraste, los análisis citogenéticos de Kato (1997) muestran que no ha habido introgresión, y lo mismo se ha encontrado con el análisis de aloenzimas de colecciones de semillas de teosintes que crecieron entremezclados con maíz (Doebley, 1990). Pero este tipo de evidencia no se ha recabado para *Z. m. ssp. parviglumis* ante la falta de marcadores específicos.

La evidencia más clara de introgresión de alelos de maíz a poblaciones de teosintes recabada hasta ahora, sin embargo, proviene del trabajo de Blancas (2001). Este trabajo utilizó 18 loci aloenzimáticos y analizó poblaciones de maíz y teosinte simpátricas y alopátricas. Encontraron que las parejas de poblaciones de maíz-teosinte simpátricas tenían distancias genéticas menores a cualquier otra pareja de poblaciones, incluidas aquellas que consistían de dos poblaciones alopátricas de la misma especie. Al analizar individuos morfológicamente intermedios entre el maíz y el teosinte, encontraron en ellos alelos distintos a las líneas parentales, y concluyeron que éstos son híbridos pero que representan a un linaje que evoluciona de manera independiente de los linajes parentales. En campos de cultivo experimentales también registraron introgresión de maíz a teosinte, pero a tasas menores al 1 por ciento por generación (Ellstrand, Clegg, Blancas, y Garner,, trabajo en preparación).

El flujo génico entre diferentes variedades nativas y mejoradas de maíz en México se ha documentado en varios estudios (por ejemplo, Castillo González y Goodman, 1997; Louette et al., 1997). En este caso, las tasas de polinización cruzada son muy altas: hasta 60 por ciento de las semillas de una raza criolla provenían de una variedad mejorada que crecía en proximidad. Esto ha ocasionado que algunas variedades locales se parezcan mucho a algunas variedades mejoradas (véanse referencias en Castillo González y Goodman, 1997).

Los resultados anteriores sugieren que es difícil mantener a una variedad de maíz genéticamente aislada de las variedades circundantes. Sin embargo, se ha determinado que para la producción de semilla certificada es suficiente separar 200 metros las parcelas. Esta distancia limita bastante el flujo génico pero no lo impide totalmente. Datos sobre el estado de Nayarit en México sugieren que a 200 metros ocurre flujo génico entre una fuente experimental y una variedad receptora, aunque ya no lo hay a 300 metros (Ellstrand, comunicación personal). Por otro lado, en la India se establece que la distancia mínima es de 400 metros (Tunwar y Singh, 1988), mientras que para la FAO es de 600 metros (Kelly y George, 1998). Quizá lograr desfases en las fenologías de las variedades sea una forma de aislamiento más eficiente que la separación física (Kelly y George, 1998). Pero, en resumen, en el campo mexicano parece bastante difícil aislar una variedad transgénica de otras y de las poblaciones de teosintes (véase gráfica 1). Estimulados por el riesgo de flujo génico no deseado, se hacen esfuerzos por incorporar en las construcciones transgénicas secuencias que afecten la viabilidad del polen y por tanto impidan el flujo de genes vía polen transgénico.

La migración genética en plantas no es producto sólo del movimiento de polen (gametos) sino también del de semillas y granos (cigotos), así como de estructuras vegetativas como tubérculos, rizomas, rosetas, bulbos y bulbillos (módulos o ramets). En las poblaciones naturales, este movimiento depende de agentes naturales. Pero para el caso de los cultivos como el maíz, depende sobre todo de los agricultores. A pesar de que hay importantes normas de regulación del intercambio de semillas en México (La Ley Federal de Variedades Vegetales, los Derechos de Mejoradores Vegetales y la Ley Federal de Producción, Inspección y Certificación de Semillas), las prácticas de almacenamiento de semillas para futuras temporadas son comunes y en general, las semillas a las cuales los agricultores tienen acceso se intercambian sin regulación estricta. En México, los flujos de semillas de maíz por intercambios (intencionales o no) desempeñan un papel importante en la determinación del flujo génico entre variedades de maíz y la diversidad de este cultivo en las localidades. Estos flujos sociales se superponen al flujo biológico y pueden afectar significativamente la composición y estructura genética de las poblaciones. Además, el hecho de que la mayor parte de los pequeños agricultores posea varias parcelas pequeñas esparcidas en el paisaje los vuelve incapaces de predecir y controlar el flujo génico natural entre variedades (Bellon y Brush, 1994). Esta situación crea una condición en la cual numerosas poblaciones diferentes se siembran unas al lado de otras, lo que favorece el flujo génico entre diferentes variedades y razas de maíz, así como con sus parientes silvestres: las parcelas de maíz están intercaladas en áreas naturales en regeneración, y en éstas y en las orillas de las parcelas crecen los teosintes. En algunos casos, los teosintes se encuentran también asociados o dentro de las parcelas de maíz. De hecho, las actividades agrícolas tienen un impacto directo en la regeneración del teosinte y en la regulación de la introgresión entre el maíz y el teosinte —por ejemplo, *Zea diploperennis* necesita de perturbaciones antrópicas (roza, tumba y quema o perturbaciones similares) para asegurar su permanencia y evitar su extinción local (Sánchez-Velásquez *et al.*, 2001).

La entrada de los transgenes en una población no asegura que puedan persistir en las poblaciones receptoras, sean silvestres o cultivadas. Es decir, el entrecruzamiento no asegura la introgresión. Para que los genes permanezcan en las poblaciones silvestres y ocurra la introgresión, es necesario que la adecuación de los híbridos sea igual o mayor que la de la de los individuos de las variedades parentales. Los datos apuntan a que, en la mayoría de los casos, los híbridos son tan adecuados (*fit*) o más que los individuos silvestres puros (Ellstrand *et al.*, 1999), al extremo de dar lugar, en la mayoría de los casos, a la evolución de malezas nuevas (Ellstrand y Schierenbeck, 2000). También hay evidencia, aunque mucho menos documentada, de que la hibridación aumenta el riesgo de extinción de los parientes silvestres (Ellstrand *et al.*, 1999). Una vez que la introgresión ocurre, el efecto biológico de los transgenes depende del efecto fenotípico del gen insertado (Ellstrand y Hoffman, 1990). Contamos ya con datos de efectos biológicos con relación a algunas de las 22 variedades transgénicas aprobadas y liberadas en Estados Unidos ([www.agbios.com](http://www.agbios.com)). Los transgenes en estas variedades confieren al maíz resistencia a herbicidas, resistencia a una o varias plagas de lepidópteros, esterilidad masculina o una combinación de estas tres características. Para cada caso son diferentes, tanto la posibilidad de persistencia de los transgenes después de su introgresión a variedades locales no transgénicas o a los teosintes, como el efecto biológico de su introgresión.

Además de los procesos naturales involucrados en determinar la permanencia de los transgenes en las variedades cultivadas y naturales, probablemente la influencia más importante y menos documentada en el mantenimiento de las razas de maíz, provenga de las prácticas del agricultor. Particularmente, de las prácticas de selección de semillas para la siembra que a su vez afecta el flujo génico. Sin embargo, los transgenes pueden no ser detectados por los agricultores a menos de que determinen caracteres fenotípicos claros que puedan ser identificados por los agricultores y sujetos a selección. Algunos de estos aspectos se tratan en el trabajo del Profesor Altieri.

### 1.2.2 Consecuencias del flujo génico

### ***Persistencia de transgenes después del flujo génico***

La persistencia de los transgenes dependerá de su efecto en la adecuación relativa (igual al producto de la probabilidad de sobrevivencia y reproducción de los individuos que expresan los transgenes en comparación con aquellos que no lo expresan) de los receptores. Si la adecuación que confieren los transgenes es igual a la que tienen los individuos sin los transgenes, entonces decimos que estos alelos transgénicos son neutros. Por ejemplo, la tolerancia a herbicidas será una característica neutra en las plantas a menos de que éstas sean tratadas con el herbicida para el cual fueron diseñados los transgenes de resistencia. Pero la resistencia a lepidópteros aumentaría la adecuación en sitios en donde estos insectos normalmente merman la probabilidad de sobrevivencia o reproducción de las plantas. Finalmente se espera que la esterilidad masculina merme la probabilidad de reproducción vía polen en cualquier caso y ambiente. Es claro que en algunos casos (resistencia a insectos) se espera persistencia en las poblaciones nativas o cultivos locales receptores, incluso después de un solo evento de introducción de transgenes. Por esta razón es importante mantener en México esquemas de monitoreo eficientes que evalúen la presencia de transgenes en poblaciones nativas de teosintes y en maíces criollos. La posibilidad de que estos transgenes hayan introgresado en los maíces criollos en México aún se debate a partir de la publicación de Quist y Chapela (2001). Detallamos este debate en la siguiente sección. Aquí profundizamos en las condiciones que pueden mediar la persistencia de los transgenes una vez que llegan a una población receptora.

Consideremos el caso en que ocurre un solo evento de hibridación entre algunos individuos para los cuales está fijo un transgén (donadores) y una población de plantas no transgénicas (cultivadas o silvestres). Supongamos que en la progenie que resulta de este evento de hibridación los transgenes tienen una proporción  $p$ . La teoría de genética de poblaciones propone que con este único evento de flujo génico, el transgén permanecerá con esta frecuencia si no tiene efectos fenotípicos en la población receptora. Es decir, si la adecuación de los híbridos portadores del transgén es igual a la de los individuos sin el transgén. Pero si el transgén produce un aumento en la adecuación, su frecuencia aumentará en cada generación hasta llegar a uno, es decir, hasta fijarse en la población receptora. En contraste, si el transgén provoca un decremento en la adecuación de los individuos que lo portan en comparación con los que no lo portan, entonces su frecuencia disminuirá en cada generación hasta llegar a cero o perderse (Ellstrand, 2003). Éste es el caso más simple. En el caso en que el flujo génico es recurrente y proviene de una fuente uniforme, aún cuando los transgenes sean neutrales, los individuos que los portan aumentarán en frecuencia con cada generación. Es claro que en este caso los transgenes que confieren ventajas se fijarán muy rápido; pero si confieren desventajas, también se mantendrán a frecuencias intermedias, que dependerán del balance entre la presión de selección negativa por la desventaja que confieren y la tasa de flujo génico (Ellstrand, 2003).

### ***Generación de malezas por resistencia a herbicidas y plagas***

Existe evidencia abundante de que los cultivos mejorados por prácticas tradicionales para resistir a plagas y enfermedades pueden hibridarse con sus parientes silvestres y propiciar la evolución de malezas más competitivas. En el caso de plantas transgénicas con modificaciones que proporcionan resistencia a plagas que no se encuentran en los parientes silvestres, el flujo de transgenes puede tener un valor selectivo distinto, en parte porque en estos casos no existe una historia coevolutiva entre el cultivo y la plaga o patógeno. Como se dijo líneas arriba, en el caso de transgenes que proporcionan resistencia a herbicidas, en principio no se esperaría ninguna ventaja adaptativa del portador en un ambiente natural en el que no se utiliza el herbicida. Sin embargo, en muchos casos los cultivos y sus parientes silvestres se distribuyen en el mismo ambiente o en su proximidad. En estos casos, la transferencia de tolerancia a herbicidas puede hacer plantas silvestres difíciles de controlar, como en el caso de los parientes silvestres de las plantas cultivadas (Hall *et al.* 2000). Por ejemplo, los parientes silvestres de la canola con introgresión se pueden volver difíciles de manejar. En canola hay ahora cuatro variedades resistentes a herbicidas (tolerancia a Bromoxnyl de Rhone-Poulenc Rorer, que es ahora parte de Bayer Cropscience) y la variedad □”pursuit”

generada por mutagenesis. En el afán de buscar plantas resistentes distintas a las silvestres se han generado plantas *triple-resistentes*, recombinaciones genéticas de las tres líneas originales. Aunque estas plantas aún pueden manejarse con otros herbicidas, es claro que se pueden enfrentar problemas agrícolas difíciles de solucionar una vez que hay introgresión de genes de variedades transgénicas que confieren resistencia a herbicidas en poblaciones silvestres que crecen cerca del cultivo tratado con herbicidas. Aunque la tendencia actual es producir herbicidas cada vez menos nocivos para el ambiente, si se inicia una carrera de inserción de transgenes para mantener el valor comercial de los productos, se puede llegar a casos como el anterior y esto puede también conducir a la necesidad de utilizar herbicidas cada vez más poderosos y más nocivos para el ambiente. Una medida para evitarlo sería no introducir más de un tipo de resistencia en cultivos que pueden entrecruzarse, como es el caso del maíz.

Para el caso particular del maíz, la introducción de resistencia a herbicidas podría ser problemática en sitios en donde el teosinte se considera maleza y se controla con el herbicida en cuestión. En este caso, la inserción del transgén de resistencia en el teosinte llevaría a la evolución de una maleza difícil de manejar. Algo similar podría ocurrir con la resistencia a plagas por la expresión de la proteína Cry, cuya toxicidad depende de la especie de insecto y de la variante proteica utilizada (Sears *et al.*, 2001). Es previsible que si esta resistencia pasa a un teosinte que naturalmente se controla por lepidópteros susceptibles a la proteína expresada en las plantas transgénicas, también podría darse la evolución de supermalezas. Sin embargo, en este caso el teosinte sería resistente a la plaga de lepidóptero pero no a un herbicida adecuado para su control. En cualquier caso, no se espera que alguno de estos dos tipos de resistencia pueda convertir una variedad de maíz criolla en maleza.

### ***Esterilidad masculina***

La expresión de esterilidad masculina no debe producir efectos biológicos dañinos para el caso mexicano porque es poco probable que estos transgenes lleguen a México y porque la expresión de este carácter acarrearía desventajas tanto a las plantas de maíz como al teosinte que lo llegaran a expresar.

### ***Evolución de insectos resistentes y generación de nuevas plagas***

En condiciones naturales, la resistencia de las plantas a los insectos que las consumen es resultado de un proceso dinámico que ha evolucionado por muchos millones de años. Generalmente ocurre una carrera coevolutiva entre las poblaciones de plantas y las poblaciones asociadas de insectos en las que se seleccionan los individuos que superan los mecanismos de resistencia de las plantas. Esto promueve la evolución de nuevos mecanismos de resistencia en las plantas, y a su vez nuevas variantes de insectos resistentes, y así sucesivamente. Este patrón también ocurre entre las plantas cultivadas y sus plagas, y es probable que también ocurra de manera similar en la mayoría de los casos en los que se generalice el uso de cultivos que expresan la proteína Bt. Existen diversas variedades desreguladas en Estados Unidos, modificadas genéticamente para expresar la proteína Cry1Ab de una bacteria del suelo muy común: *Bacillus thuringiensis*. La mencionada proteína forma cristales que se solubilizan en el intestino medio de determinados insectos, en este caso el gusano barrenador europeo —la larva del lepidóptero *Ostrinia nubilalis*. Una vez solubilizadas estas toxinas se activan y se pegan a las membranas de las células columnares del intestino formando canales iónicos que provocan la ruptura de las células epiteliales y consecuentemente la muerte del insecto (Strizhov *et al.*, 1996). En este caso, aumentarán las probabilidades de que se seleccionen plagas con resistencia a estas proteínas tóxicas. El *B. thuringiensis* se ha usado como insecticida microbiano, incluso en agricultura orgánica, por más de 30 años. Debido a que se degrada relativamente rápido en el ambiente, los insectos se ven expuestos de manera limitada y es quizá por esta razón que no se ha registrado resistencia al Bt usado de esta forma. Esto ha sustentado el desarrollo biotecnológico de resistencia a plagas mediante la expresión de Bt. Sin embargo, para el caso de los transgénicos que expresan esta toxina, la aparición de plagas resistentes al Bt puede ser más factible si no se

usan las prácticas adecuadas. Esto se debe a que el uso de los transgénicos que expresan Bt puede llegar a ser indiscriminado y la exposición de la plaga a la toxina puede llegar a ser mucho mayor y más directa que la experimentada en las prácticas orgánicas. La generación de resistencia sería negativa porque se perdería, además de la efectividad de los cultivos Bt, la posibilidad de utilizar este insecticida biológico (Gould, 1998).

Por esa razón se han desarrollado varias prácticas para disminuir la velocidad con la que se seleccionan insectos resistentes a las toxinas producto de la modificación transgénica (Andow, 2002). Estas prácticas incluyen la utilización de zonas de refugio en las que se cultivan plantas sin transgenes; la generación de nuevas variedades de la toxina para evitar que se fije la resistencia en los insectos a una variedad particular, y la precaución de no introducir de manera simultánea diferentes genes de resistencia a plagas en la misma variedad agrícola para que la presión de selección sobre las plagas no las lleve a fijar resistencia a varias toxinas diferentes. También se han practicado rotaciones de cultivos resistentes y no resistentes para evitar una presión de selección constante sobre los insectos e impedir así que desarrollen resistencias. Por lo tanto, es claro que si ocurre el flujo no intencional y controlado de estos transgenes de resistencia a poblaciones no sujetas a regulación en la aplicación de este tipo de prácticas, se pueden originar plagas de insectos nuevas y difíciles de controlar y en ese caso será necesario usar otros insecticidas. Es importante enfatizar que el éxito en el uso de las plantas-Bt depende del uso de un plan integral de manejo de plagas que es muy poco factible que se implemente en países como México.

### ***Erosión genética***

En la mayoría de los casos, la introducción de nuevos alelos por flujo génico aumenta la diversidad genética local, al menos temporalmente. Las circunstancias en las cuales la introducción de un alelo puede reducir la diversidad génica son restringidas. Pero esto puede ocurrir si este alelo confiere ventajas adaptativas importantes y si la selección natural en su favor y en contra de otras variantes alélicas nativas es muy grande. En este caso, el alelo nuevo y cualquier otro alelo cercanamente ligado a éste sustituirán la variación alélica local en los loci involucrados. Al fenómeno por medio del cual se seleccionan varios loci cercanamente ligados a uno que confiere adecuaciones muy altas se le conoce como *hitchhiking* en inglés. Sin embargo, en especies de polinización abierta como el maíz, la recombinación aseguraría que los efectos detrimentales sobre la variabilidad genética ocurriera raramente y se restringieran a porciones del genoma sumamente pequeñas (Ellstrand, 2003).

### ***Efectos no esperados***

Los descendientes de plantas transgénicas que de manera no intencional han polinizado plantas para las cuales no fueron diseñados los genes introducidos por la técnica de ADN recombinante, pueden tener consecuencias no esperadas. Por ejemplo, la expresión de toxinas puede dañar a insectos que no son plagas y sí son benéficos. El caso más estudiado corresponde al posible efecto nocivo de la toxina Bt en la mariposa monarca. Losey *et al.* (1999) presentaron evidencia de que el polen de maíz transgénico depositado sobre las hojas de las asclepias de las que se alimentan las larvas de la mariposa monarca, afectaba significativamente la sobrevivencia y crecimiento de las larvas de esta mariposa en condiciones de laboratorio, y ellos mismos reconocieron la necesidad de hacer estudios de campo. Como respuesta a este trabajo, muchos otros investigadores exploraron los efectos del polen de maíz Bt en las larvas de la mariposa monarca y otras, tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones naturales (Hellmich *et al.*, 2001; Oberhauser *et al.* 2001; Sears *et al.*, 2001; Stanley-Horn *et al.*, 2001; Zangerl *et al.*, 2001). No faltaron las controversias: en algunos casos se descubrieron efectos sobre el crecimiento y la sobrevivencia de algunos estadios larvarios, aunque en otros estudios no se observaron diferencias significativas con estos parámetros entre las larvas expuestas a polen de maíz Bt y los controles. El resultado general más importantes es que los efectos dependen de los niveles de exposición y del evento del que se trate (de la variedad específica de Bt), y los niveles de exposición que se esperan en el campo son muy bajos. Sin

embargo, de esta serie de estudios surgen recomendaciones de manejo de riesgos, como seleccionar transgénicos que no expresen las endotoxinas del Bt en el polen sino únicamente en las partes de la planta de las que se alimenta la plaga.

Aun cuando los efectos documentados en el caso del maíz Bt en campo parecen prácticamente inexistentes, es claro que los efectos ecosistémicos de los transgenes son posibles y por tanto resulta importante extender este tipo de investigación a todos los eventos liberados al ambiente. Por ejemplo, aunque que la proteína *Cry* se produce naturalmente por bacterias del suelo, las proteínas de plantas transgénicas pueden ser cualitativa y cuantitativamente distintas a las producidas naturalmente por las bacterias, y ya que ahora sabemos que las proteínas *Cry* persisten en el suelo durante periodos mucho más largos que los previstos, se especula sobre sus posibles efectos ecológicos (Stotzky, 2002) y se refrenda la necesidad de hacer estudios a más largo plazo.

Además de los efectos sobre organismos no blanco, se espera que la introducción de un gen tenga efectos múltiples, algunos no esperados y dependientes del ambiente en donde crece una planta. A los efectos colaterales de los genes se les conoce como pleiotrópicos y ocurren por lo general en los genomas de todos los organismos. Durante la etapa de desarrollo de los organismos genéticamente modificados (OGM), las industrias y los laboratorios de investigación llevan a cabo programas extensivos de selección en los que se evalúan efectos no esperados en las líneas transgénicas generadas. Estos programas han revelado que sólo una pequeña fracción de las líneas transgénicas obtenidas cumplen todos los requerimientos esperados por los biotecnólogos. La dificultad para encontrar líneas adecuadas tiene relación, además, con el hecho de que la expresión de los transgenes depende de dónde se inserten dentro del genoma de la planta receptora. El sitio de inserción no se puede predecir, ni determinar *a priori*, con base en las técnicas actuales de ADN recombinante disponibles para plantas y animales. Además, los estudios incluyen ambientes relativamente limitados y exploran efectos en los fenotipos a corto o, rara vez, a mediano plazo. Es necesario, por lo anterior, mantener monitoreos sistemáticos en todos los ambientes donde se liberen los OGM, ya que la expresión de éstos puede resultar influida por el medio y la recombinación.

La literatura sobre efectos no esperados de la modificación genética tiene un interesante ejemplo relacionado con diferentes eventos de maíz Bt. Saxena y Stotzky (2001) compararon diferentes híbridos de maíz Bt, correspondientes a tres eventos transgénicos distintos, con sus respectivas líneas isogénicas relacionadas con el contenido de lignina. Encontraron en el tallo de las plantas de maíz transgénico un contenido de lignina significativamente mayor (33-97 por ciento) que sus respectivas líneas isogénicas. Esta tendencia se mantuvo tanto en plantas crecidas en cámaras de crecimiento como en plantas en el campo. Más aún, el contenido de lignina fue consistentemente mayor en plantas genéticamente modificadas crecidas en el campo que en las que se desarrollaron en los ambientes controlados dentro de cámaras de crecimiento. Los autores analizan una serie de implicaciones ecológicas que esta característica, producto de interacciones genéticas, podría acarrear al ambiente. Algunas son potencialmente benéficas, como la mayor resistencia mecánica de los tallos o el efecto positivo de la lignina sobre la materia orgánica del suelo y el control de la erosión. Otras son potencialmente nocivas, como la mayor permanencia de la proteína tóxica en el suelo y la baja digestibilidad del maíz transgénico usado como forraje. El punto central, sin embargo, es lo inesperado del efecto y lo poco que sabemos hasta ahora del mecanismo genético y metabólico que vincula la producción de la proteína *Cry1Ab* con la producción de lignina y probablemente con otros procesos hasta ahora inexplorados.

## **2 Estado de conocimiento: Áreas con asuntos no resueltos y controversiales**

En este apartado se resumen los debates más importantes en cada área del conocimiento desglosada en el apartado anterior.

### **2.1 México como centro de origen y diversidad de maíz: estado actual de la biodiversidad en razas locales y teosintes silvestres**

Aún se debate sobre el número de variedades de maíz, sus relaciones genealógicas y su historia evolutiva con respecto a los teosintes. El debate se debe a que distintos autores siguen criterios diferentes para delimitar las variedades. Este panorama debe esclarecerse para poder hacer evaluaciones de los impactos de los transgenes en la biodiversidad cultivada y silvestre de maíz en México. En la última sección de este ensayo se plantean recomendaciones concretas y prioritarias para resolver esta laguna del conocimiento y promover la conservación de la riqueza genética del maíz en México.

## **2.2 Efectos de la liberación al ambiente de variedades transgénicas de maíz**

### **2.2.1 Flujo génico**

Se han destacado el estudio y la importancia del flujo de las variedades transgénicas a las silvestres, pero el flujo de cultivo transgénico a no transgénico es igualmente importante. A pesar de que en México se mantiene desde 1998 una moratoria *de facto* a la siembra semicomercial y comercial de maíz transgénico, reportes recientes apuntan a que variedades remotas de maíz criollo en Oaxaca pueden ya tener transgenes provenientes de distintas líneas desreguladas en Estados Unidos. Esto ha despertado una polémica de trascendencia por las consecuencias biológicas (discutidas en apartados anteriores), agrícolas y socioeconómicas (discutidos en otras partes de este documento) que ese fenómeno podría alcanzar.

### ***Presencia de transgenes en variedades criollas de maíz en México***

El estudio de Quist y Chapela (2001; Dalton, 2001) constituye la primera evidencia empírica publicada de la presencia de transgenes en cultivos criollos de maíz en México. Estos autores encontraron bandas de PCR positivas que indican la presencia del promotor del 35S del virus del mosaico de la coliflor en el genoma de maíces criollos. Este promotor se ha utilizado en prácticamente todos los desarrollos biotecnológicos de plantas transgénicas hechos hasta ahora. También se encontró la presencia del terminador *NOS* de *Agrobacterium tumefaciens* y el gen *cryIAb*, que codifica para la proteína insecticida Bt, *Bacillus thuringiensis*. Sin embargo, una nota publicada poco después del estudio de Quist y Chapela (Hodgson, 2002) refuta los hallazgos de Chapela. Su principal argumento se basa en un estudio, publicado en la página electrónica del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT, véase también Christou, 2002), donde se muestra que análisis de investigadores de este centro no encontraron, siguiendo la técnica de PCR, la construcción transgénica que contiene el gen promotor 35S del virus del mosaico de coliflor en muestras de maíz de Oaxaca colectado entre 1999 y 2001. Meses después de la publicación de Quist y Chapela apareció en *Nature* una carta de su editor (Editorial Note, 2002) en la que señala que la revista no se hace responsable de lo publicado por Quist y Chapela. El deslinde se basa en las conclusiones de un grupo de científicos que cuestionan tanto las técnicas utilizadas como el reporte original, los resultados y las conclusiones de Quist y Chapela. Dos de las cartas recibidas por *Nature*, con críticas a Quist y Chapela, se adjuntan a la nota del editor (Metz y Fütterer, 2002; Kaplinsky, *et al*, 2002). Los científicos argumentan que la técnica de PCR puede estar sujeta a artefactos especialmente cuando se usan dos rondas de la reacción para obtener bandas positivas. También argumentan que para poder asegurar la presencia de transgenes en el genoma de los maíces criollos es necesario contar con experimentos de hibridación tipo Southern. Finalmente cuestionan las conclusiones del artículo de Quist y Chapela, según las cuales los transgenes se encuentran en múltiples contextos genómicos en los maíces criollos. En este caso demuestran que varias de las secuencias clonadas por Quist y Chapela a partir de la técnica inverse-PCR son artefactuales y se deben a que el genoma de maíz reviste secuencias muy similares a ciertas regiones de las secuencias del promotor del 35S utilizado en las variedades transgénicas objeto de las búsquedas de Quist y Chapela. Sin embargo, los dos grupos concluyen que es muy probable encontrar los transgenes en las variedades criollas, a pesar de que, por falta de resultados contundentes, es prematuro derivar conclusiones sobre su efecto en la diversidad de maíces locales. También rechazan la posibilidad de que los transgenes sean inestables. En el mismo número, Quist y Chapela (2002) publicaron una carta con datos nuevos de hibridación de muestras no digeridas (*dot-blot*) que corroboran sus hallazgos y reconocen que algunos (no todos) de sus resultados

de i-PCR pueden ser artefactuales. Sin embargo, reafirman su conclusión de que los transgenes están presentes en las variedades criollas de México.

Motivados por los estudios de Quist y Chapela, el INE y la Conabio encargaron a dos laboratorios (el de Rafael Rivera en el Cinvestav de Irapuato, y el de Elena Álvarez-Buylla en la UNAM) la elaboración de estudios más exhaustivos para documentar la posible introgresión de transgenes a variedades criollas en México. Los primeros estudios derivados de este esfuerzo se enviaron a *Nature*, pero no fueron publicados con base en una serie de críticas técnicas —en evaluación en este momento para revisar y en su caso repetir algunos experimentos antes de someter nuevamente el estudio para su publicación (véase en apéndice el resumen de este hallazgo)—. Los resultados recabados hasta ahora apuntan a corroborar la presencia de los transgenes en razas criollas de maíz de Oaxaca y Puebla. Resolver la incertidumbre sobre esta problemática será fundamental por las consecuencias biológicas (y de otra índole) del posible flujo e introgresión de transgenes a variedades locales. Las consecuencias aún sujetas a polémica o respecto de las cuales existen lagunas de conocimiento se discuten en los apartados que siguen.

### **2.2.2 Consecuencias del flujo génico:**

#### ***Efectos ecosistémicos en especies no emparentadas y especies no blanco***

Las variedades transgénicas pueden alterar la biodiversidad por sus efectos en el ambiente y en otras especies no emparentadas que no son el objetivo o blanco del desarrollo de una variedad transgénica particular. El ámbito de estos impactos es el ecosistémico. Los datos para documentar estos efectos son aún muy escasos. Entre los efectos negativos sobre organismos no blanco destacan aquellos que impactan a insectos benéficos y polinizadores o incluso a parásitos de las plagas blanco de los transgenes. El estudio más conocido es el de la mariposa monarca y el polen de maíz Bt, resumido en el apartado anterior. Aunque en este caso los experimentos hasta ahora disponibles concluyen que el efecto no será significativo, es importante seguir investigando los efectos a largo plazo en este caso y otros similares.

## **3 Temas prioritarios en los que se necesita mayor investigación para mejorar el entendimiento de los riesgos para la biodiversidad**

En los apartados anteriores se hizo mención de algunas áreas en las que hace falta investigación. Aquí se resumen aquellas con mayores urgencias.

### **3.1 Biodiversidad en razas locales y teosintes silvestres**

Los criterios para distinguir las razas y variedades deben cambiar a métodos moleculares modernos que permiten establecer las relaciones genéticas o de parentesco entre las razas y comparar estas relaciones con las establecidas por criterios morfológicos y con los criterios de los agricultores. Con esto se podrá uniformizar la documentación y caracterización de la biodiversidad de maíces y parientes asociados en México. Ésta es una base imprescindible para evaluar el impacto de la biotecnología en esta biodiversidad. En el apéndice II se detallan algunos aspectos por estudiar prioritarios y las acciones concretas que hacen falta para impedir la extinción de razas de maíz y especies de sus parientes silvestres.

### **3.2 Efectos de la liberación al ambiente de variedades transgénicas de maíz**

#### **3.2.1 Flujo génico:**

##### ***Presencia de transgenes en variedades criollas de maíz en México***

Es prioritario corroborar los resultados de Quist y Chapela (2001). De corroborarse la presencia de transgenes en razas criollas de maíz mexicano tendrán que extremarse las medidas para evitar que el flujo alcance a criollos y teosintes. Es importante determinar si ha habido flujo génico a teosintes y si los bancos

de germoplasma están completamente libres de transgenes. También será muy importante evaluar la dinámica espacio-temporal de la presencia de los transgenes, sus contextos genómicos y las razas criollas afectadas. Asimismo será fundamental averiguar el origen de los transgenes encontrados. Una posible fuente de entrada es la venta en tiendas rurales de granos fértiles de maíz importado, algunos de los cuales provienen de variedades transgénicas desreguladas en Estados Unidos. Esto se debe evaluar. Para cada caso deberán impulsarse estudios detallados que aborden todos los aspectos discutidos en los apartados anteriores y evaluar su posible impacto en términos de los apartados que se discuten a continuación.

### **3.2.2 Consecuencias del flujo génico**

#### ***Transferencia horizontal: transferencia de la resistencia a antibióticos***

Se ha extendido la polémica en torno a la posibilidad de que cualquiera de las secuencias insertadas por la tecnología de ADN recombinante se pueda transferir horizontalmente a bacterias, virus u otros organismos rompiendo las barreras naturales al entrecruzamiento entre especies emparentadas. Esto ha ocurrido en la historia evolutiva natural de la vida en la tierra. La duda es si las nuevas combinaciones creadas por la tecnología de ADN recombinante pueden implicar riesgos novedosos para la ecología. Las consecuencias de las transferencias horizontales son difíciles de predecir por ahora, pero podrían ser importantes, por ejemplo, en caso de generación de nuevos microorganismos patógenos. Este tema adquiere una relevancia inmediata con relación a la posible transferencia de los genes de resistencia a antibióticos, que portan casi todas las plantas transgénicas desreguladas hasta ahora, a microorganismos que podrían ser patógenos y volverse resistentes a varios antibióticos (véase apéndice III).

#### ***Acumulación de ADN desnudo en el ambiente: ¿desecho biotóxico?***

Algunos investigadores han manifestado su preocupación por la acumulación en el ambiente de desechos de la biotecnología en forma de ADN desnudo (secuencias amplificadas muchas veces por la reacción en cadena de la polimerasa, agregaciones de secuencias que no se encuentran juntas naturalmente y se generan por la técnica de ADN recombinante, plásmidos y otros vectores, etc.) debidos a escapes no intencionales de laboratorios o plantas biotecnológicas. Pero también puede acumularse ADN recombinante después de que los organismos transgénicos liberados al ambiente (maíz transgénico, por ejemplo) se mueren. Estos dejarán en el ambiente grandes cantidades de ADN desnudo recombinante después de muertos e incluso después de su degradación. Hay evidencia de que los ácidos nucleicos pueden retener actividad biológica mucho después de la muerte de los organismos (eg., Lorenz y Wackernagel, 1994; Nielsen *et al.*, 1998). ¿Pueden éstos ser biotóxicos? ¿Cuál será el efecto ecológico de estos ácidos nucleicos en el corto y largo plazo? Este tema está íntimamente ligado con el anterior por la posibilidad de que estos ácidos nucleicos, producto de la tecnología del ADN recombinante y novedosos para la naturaleza tanto por su calidad como por su cantidad, sean incorporados por bacterias o virus (transferencia horizontal). Es urgente desarrollar investigaciones en estos temas.

#### ***Inestabilidad genómica de los transgenes***

Hay grandes incógnitas en torno a la estructura y dinámica del genoma. Responderlas es importante para saber si existen regiones que puedan considerarse más idóneas y seguras que otras para la integración de los transgenes. Por el momento no se puede predecir el sitio de inserción de los transgenes en plantas y animales, de ahí que la selección de las mejores líneas transgénicas se lleve a cabo con base en pruebas de laboratorio, invernadero y campo *a posteriori* y de manera empírica (prueba y error). Se prevé que en esta década se avanzará de manera considerable en el conocimiento necesario para perfeccionar este aspecto tecnológico en la generación de plantas y animales transgénicos. A partir de este conocimiento se podrán

entender mejor las anomalías en la herencia transgénica y se podrán elaborar hipótesis más precisas de su dinámica ecológica y evolutiva. Pero con relación a las variedades de maíz (y de plantas en general) se han presentado algunas discusiones relevantes (véase su resumen en el apéndice IV). Para abundar en este tema y en muchos relacionados con la necesidad de echar a andar programas de monitoreo eficaces, es prioritario que las empresas u organismos que desarrollan maíz transgénico faciliten la descripción no sólo de las construcciones transgénicas, sino de la secuencia de al menos cinco kilobases de ADN a cada costado del transgén insertado, así como la ubicación, mediante marcadores moleculares, de los transgenes en los mapas cromosómicos del maíz. De esta manera se podrá detectar y caracterizar de manera fina, a medida que aumente nuestro conocimiento de la organización del genoma del maíz y su dinámica, la estabilidad de los transgenes dentro del genoma y sus consecuencias a largo plazo. Pero, en general, las compañías generadoras y comercializadoras de las variedades transgénicas deben poner a disposición de la comunidad científica y de la ciudadanía toda la información y materiales necesarios para diseñar prácticas de monitoreo con los controles adecuados (véase en apéndice IV las discusiones relacionadas con este tema).

### ***Posible impacto de nuevos desarrollos en maíz, aún no desregulados, que producen fármacos y sustancias de uso industrial***

Dado que el flujo génico y la introgresión de variedades transgénicas a variedades locales de maíz destinadas al consumo humano o animal son claramente posibles, si no ya un hecho (véase discusión de datos de Quist y Chapela), es particularmente preocupante que pueda haber introgresión en variedades utilizadas para el consumo animal o humano por variedades creadas para producir sustancias industriales o fármacos (Ellstrand, 2001). Esto podría afectar la seguridad alimentaria, de ahí que su evaluación resulte prioritaria y, en su caso, tomar medidas de contención o freno. Resumimos aquí los riesgos que revisten los desarrollos más recientes en maíz. El "Information Systems for Biotechnology website and database of United States field tests of trasgenic plants" ([www.nbiap.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm](http://www.nbiap.vt.edu/cfdocs/fieldtests1.cfm)) proporciona una lista de 1,065 pruebas de campo aprobadas desde enero del 2001. Cada prueba puede incluir más de un campo de cultivo y la mayoría de éstos (más de 700) son para maíz con fenotipos parecidos a los ya desregulados y discutidos en este ensayo (resistencia a herbicidas y a plagas de insectos y variedades de esterilidad masculina). Sin embargo, 216 pruebas de campo incluyen otras alteraciones: perfil del contenido de aminoácidos o aceites, variedades con mayor producción de proteínas, variedades de mayor rendimiento, con alteraciones morfológicas, fenológicas, etc. La información de éstas es muy limitada, pues aún no se desregulan (National Academy of Sciences, 2002) y por lo tanto no podemos evaluar su probable efecto biológico.

Sin embargo, es muy relevante notar que 37 de los registros para maíz, asentados desde enero del 2001, corresponden a variedades caracterizadas como "proteínas farmacéuticas", "proteínas novedosas" o "enzimas industriales". Este número de nuevos desarrollos viene creciendo de manera acelerada. Hay que notar que para todas las otras especies de plantas existen solamente nueve entradas de estas características, de donde queda claro que los biotecnólogos han seleccionado precisamente el maíz para convertirlo en "biorreactor" para la generación de químicos de distinta naturaleza. ¿Cual será el efecto de estos nuevos compuestos? Probablemente, el consumo de muchos de ellos no tendrá consecuencias graves, pero preocupa que se estén desarrollando tantos productos de esta naturaleza sobre maíz. En caso de que cualquiera de estos productos resulte con efectos nocivos en la salud humana o animal y su polen fertilice cultivos de maíz para el consumo animal y humano, se pueden esperar consecuencias muy negativas. En este caso, una mera contaminación, sin introgresión, podría ser problemática si el producto de la concentración de la toxina en las semillas híbridas y la tasa de hibridización fueran suficientemente altos.

Dadas las medidas de regulación actuales en Estados Unidos, es posible pensar que puede haber escapes de los campos de prueba de las variedades no desreguladas (APHIS, 1997; National Academy of Sciences, 2002). Aun pequeños escapes a campos de maíz "no transgénicos" podrían tener consecuencias

devastadoras al multiplicarse por introgresión y reproducción subsecuente en Estados Unidos y luego fuera del país. Debido a que por el momento no es posible identificar fácilmente la semilla que acarrea un transgén, que a su vez expresa alguna sustancia para uso industrial, de otra que no lo lleva, será muy difícil evaluar si un gen de esta naturaleza llega a una población de maíces criollos en México. El caso del reporte de Quist y Chapela demuestra lo difícil que es alcanzar estándares científicos (para transgenes desregulados, de los cuales tenemos mucha más información) que ameriten su publicación. El problema de monitoreo será, entonces, mucho mayor con este nuevo tipo de variedades para las cuales hay muy poca información disponible.

Los antecedentes expuestos hacen claro que si el polen y las semillas de estas nuevas variedades no son contenidas totalmente, es muy probable que lleguen a México. Esto ocurriría seguramente aunque se mantenga la moratoria a la siembra de estas variedades y otras transgénicas. Si estos genes que expresan productos industriales llegaran a las poblaciones de teosintes sería imposible “limpiarlos”, a menos que confirieran desventajas claras en las plantas híbridas. Por tanto, la contaminación de las razas locales de maíz en México o en cualquier otro sitio con genes que codifican para la producción de sustancias tóxicas, es probablemente el asunto más preocupante ligado al flujo génico de variedades transgénicas de maíz y de sus consecuencias para la biodiversidad, pero también para la salud humana. Por lo tanto es un tema de la más alta prioridad y urgencia (véase en apéndice V un ejemplo particular).

## Referencias

- Andow, D.A. 2002. Resisting resistance to *Bt* corn. In: *Genetically engineered organisms: Assessing environmental and human health effects*. Ed.: D.K. Letourneau and B.E. Burrows, 99-124, Boca Raton: CRC Press.
- Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). 1997. *User's Guide for Introducing Genetically Engineered Plants and Microorganisms*. Technical Bulletin 1783.
- Bellón, M. R., and S.B. Brush. 1994. Keepers of maize in Chiapas, Mexico. *Economic Botany* 48 (2):196–209.
- Benz, B.F. 1986. *Taxonomy and evolution of Mexican maize*. Ph.D. dissertation, Madison: University of Wisconsin. 433 p.
- Blancas, L. 2001. Hybridization between rare and common plant relatives: implications for plant conservation genetics. Ph.D. dissertation. Riverside, CA: University of California.
- Buckler, E.S., and T.P. Holtsford. 1996. *Zea* systematics: Ribosomal ITS evidence. *Molecular Biology and Evolution* 13:612–622.
- Castillo González, F. and M.M. Goodman. 1997. Research on gene flow between improved maize and land races. In: *Gene flow among maize land races, improved maize varieties, and teosinte: implications for transgenic maize*, ed. J. A. Serratos, M. C. Willcox, and F. Castillo González, 67-72. Mexico, DF: CIMMYT.
- Christou, P. 2002. No credible scientific evidence is presented to support claims that transgenic DNA was introgressed into traditional maize land races in Oaxaca, Mexico. *Transgenic Research* 11: iii–v.
- Dalton, R. 2001. Transgenic corn found growing in Mexico. *Nature* 413:337.
- Doebley J., M. Goodman, and C. Stuber. 1984. Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Syst. Botany* 9:203–218
- Doebley, J. 1990. Molecular evidence for gene flow among *Zea* species. *BioScience* 40:443–448.
- Doebley, J.J., and H.H. Iltis. 1980. Taxonomy of *Zea* I: Subgeneric classification with key to taxa. *American J. Botany* 67:986–993.
- Editorial Note. 2002. *Nature* 416:600.
- Ellstrand, N.C. 2001. When transgenes wander, should we worry? *Plant Physiology* 125:1543–1545.
- Ellstrand, N.C. 2003. *Dangerous liaisons: When crops mate with their wild relatives*. Submitted to Johns Hopkins University Press.
- Ellstrand N.C. and C.A. Hoffman. 1990. Hybridization as an avenue for escape of engineered genes. *BioScience* 40:438–442
- Ellstrand, N.C. and K.A. Schierenbeck. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:7043–7050.
- Ellstrand, N.C., H.C. Prentice, and J.F. Hancock. 1999. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annual Review of Ecology and Systematics* 30:539–563.
- Frankel, R., and E. Galun. 1977. *Pollination mechanisms, reproduction and plant breeding*. Berlin: Springer-Verlag.
- Goodman, M.M. 1995. Maize. In: *Evolution of crop plants*, ed. J. Smartt and N. W. Simmonds, 192-202, Harlow: Longman. 2nd ed.
- Gould, F. 1998. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. *Annual Review of Entomology* 43: 701-726.
- Hall, L., et al. 2000. Pollen flow between herbicide-resistant *Brassica napus* is the cause of multiple-resistant *B. napus* volunteers. *Weed Science* 48:688–694.
- Hancock, J. F. 1992. *Plant evolution and the origin of crop species*. Prentice Hall, New Jersey.
- Hellmich, R.L., et al. 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis* purified proteins and pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* [complete reference]
- Hernández, X. E. 1985. Maize and the greater Southwest. *Economic Botany* 39:416–430.
- Ho, M.W., A. Ryan, and J. Cummins. 1999. *Microbial Ecology in Health and Disease* 11:194–197.
- Ho, M.W., A. Ryan, and J. Cummins. 2000a. *Microbial Ecology in Health and Disease* 12:6–11.
- Ho, M.W., A. Ryan and J. Cummins. 2000b. *Microbial Ecology in Health and Disease* 12:189.

- Hodgson, J. 2002. Doubts linger over Mexican corn analysis. *Nature Biotechnology* 20:3–4.
- Iltis, H.H., and J.F. Doebley. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae) II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Am. J. Bot.* 67:994–1004.
- Iltis, H.H. 1987. Maize evolution and agricultural origins. In: *Grass systematics and evolution: An international symposium held at the Smithsonian Institution, Washington, DC, 27–30 July 1986*. Edited by T.R. Soderstrom *et al.* p. 195–213.
- Iltis, H.H. 2000. Homeotic sexual translocations and the origin of maize (*Zea mays*, *Poaceae*): A new look at an old problem. *Economic Botany* 54:7–42.
- Kaplinsky, N., *et al.* 2002. Maize transgene results in Mexico are artifacts. *Nature* 416:601–602.
- Kato, T.A. 1997. Review of introgression between maize and teosinte. In: *Gene flow among maize land races, improved maize varieties, and teosinte: Implications for transgenic maize*, ed., J. A. Serratos, M.C. Willcox, and F. Castillo González, 44–53. Mexico, DF: CIMMYT.
- Kelly, A.F. and R.A.T. George. 1998. *Encyclopedia of seed production of world crops*. Chichester: John Wiley and Sons.
- Kermicle, J. 1997. Cross compatibility within the genus *Zea*. In: *Gene flow among maize land races, improved maize varieties, and teosinte: Implications for transgenic maize*, ed. J. A. Serratos, M. C. Willcox, and F. Castillo González, 40–43. Mexico, DF: CIMMYT.
- Kohli, A., S. Griffiths, P. Palacios, R.M. Twyman, P. Vain, D.A. Laurie, and P. Christou. 1999. Molecular characterization of transforming plasmid rearrangements in transgenic rice reveals a recombination hotspot in the CaMV 35S promoter and confirms the predominance of microhomology-mediated recombination. *Plant J.* 17:591.
- Kruse, H. and H. Sørum. 1994. Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Applied Environmental Microbiology* 60:4015–4021.
- LAMP. 1992. Data of the Latin American Maize Project. CD-ROM. Mexico, D.F. CIMMYT limited autoregulation. *Mol. Genet Genomics* 265(1):82–94.
- Lorenz, M.G. & Wackernagel, W. 1994. Bacterial gen transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol. rev.* 58: 563-602.
- Louette, D., Charrier, A., and J. Berthaud 1997. *In situ* conservation of maize in Mexico: Genetic diversity and maize seed management in a traditional community. *Economic Botany* 51(1):20–38.
- Losey J. E., L.S. Rayor and M.E. Carter. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214.
- Metz, M. and J. Fütterer. 2002. Suspect evidence of transgenic contamination. *Nature* 416:600–601.
- Meyer, P. 2000. Removal of specific DNA regions from transgenes—a necessary step to improve the precision of transgene technology? *AgBiotechNet* 2 ABN 060.  
<<http://www.agbiotech.net/reviews/nov00/html/meyer.htm>>.
- Miranda Medrano R., J.J. Sánchez González, M. Aguilar Sanmiguel, C.F. Barrera Sánchez. 2001. Un pariente silvestre del maíz como alternativa de forraje. *Scientia CUCBA* 3(4):18–31.
- National Academy of Sciences. 2000. *Genetically modified pest-protected plants: Science and regulation*. Washington, DC: National Academy Press.
- National Academy of Sciences. 2002. *Environmental effects of transgenic plants*. Washington, DC: National Academy Press.
- Nielsen K.M., A.M. Bones, K. Smalla, and J.D. van Elsas. 1998. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria – a rare event? *FEMS Microbiol. Rev.* 22:79–103.
- Oberhauser, K.S., Prysby, M.D., Mattila, H.R., Stanley-Horn, D.E., Sears, M.K., Dively, G., Olson, E., Pleasants, J.M., Lam, W.F., Hellmich, R.L. 2001. Temporal and Spatial Overlap between Monarch Larvae and Corn Pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
- Quist D. and I.H. Chapela. 2001. Transgenic DNA introgressed into traditional maize land races in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414:541–543.
- Quist, D. and I.H. Chapela. 2002. Reply. *Nature* 416:602.
- Ruiz J.A., Sánchez J.J. and Aguilar S. M. 2001. Potential geographical distribution of teosinte in Mexico: A GIS approach. *Maydica* 46:105–110.
- Sánchez. G., J.J. and S. Ordáz, L. 1987. *Teosinte in Mexico. Systematic and ecogeographic studies on crop gene pools*. Rome: IBPGR.

- Sánchez G., J.J. 1993. Modern variability and patterns of maize movement in Mesoamerica. En: *Corn and Culture in the Prehistoric World*. (Ed. S. Johannessen and C.A. Hastorf). Boulder, CO: Westview Press Inc.
- Sánchez G., J.J., and J.A. Ruiz 1996. Distribución del teosinte en México. pp. 20–38. In: J.A. Serratos, M.C. Wilcox and F. Castillo G. *Flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teosinte: Implicaciones para el maíz transgénico*. México, D.F.: CIMMYT.
- Sánchez G., J.J., T.A. Kato Yamakake, M. Aguilar Sanmiguel, J.M. Hernández Casillas, A. López Rodríguez and J.A. Ruíz Corral. 1998. *Distribución y caracterización del teosinte*. Libro Técnico Núm. 2. INIFAP. Ed. Conexión Gráfica. Guadalajara. Jal. 149 pp.
- Sánchez-Velásquez, L.R. 2001. Biodiversidad, maíces y teosintes: ¿Para la cocina y bolsillo de quienes?. *Ciencia y el Hombre* 14(1):27–32.
- Saxena, D. & G. Stotzky. 2001. Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *American Journal of Botany*. 88, 1704-1706.
- Sears, M.K., R.L. Hellmich, D.E. Stanley-Horn, K.S. Oberhauser, J.M. Pleasants, H.R. Mattila, B.D. Siegfried, and G.P. Dively. 2001. Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:11937–11942.
- Serratos-Hernández J.A., F. Islas-Gutierrez and J. Berthaud. 2001. Maize production, land races of maize and teosinte distribution in Mexico: Elements for gene flow scenarios and risk assessment of transgenic maize release. (En prensa, UNIDO). [still? Has 2001 publication date!]
- Small, E. 1984. Hybridization in the domesticated-weed-wild complex. In: *Plant biosystematics*, ed. W. F. Grant. Toronto: Academic Press, 195–210.
- Srivastava, V., V. Vasil, and I.K. Vasil. 1996. Molecular characterization of the fate of transgenes in transformed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 92:1031–1037.
- Stanley-Horn D., G.P. Dively, R. Hellmich, H.R. Mattila, M.K. Sears, R. Rose, L.H. Jesse, J.E. Losey, J. Obrycki and L. Lewis. 2001. Assessing the impact of *Cry1Ab*-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:11931–11936.
- Stotzky, G. 2002. Release, persistence, and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. In: *Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects*. Ed. D. K. Letourneau and B. E. Burrows, 187–222, Boca Raton: CRC Press.
- Strizhov, N., M. Séller, J. Mathur, Z. Koncz-Kálmán, D. Bosh, E. Prudovsky, J. Schell, B. Sneh, C. Koncz and A. Zilberstein. 1996. A synthetic *CryIC* gene, encoding a *Bacillus thuringiensis*-endotoxin, confers Spodoptera resistance in alfalfa and tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93:15012–15017.
- Tenaillon M.I., *et al.* 2002. (en revisión). (completar cita). [or delete if not needed]
- Tenaillon M.I., M.C. Sawkins, A.D. Long, R.L. Gaut, J.F. Doebley, B.S. Gaut. 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:9161–9166.
- Tiedje *et al.* 1987. (completar cita) [or delete if not needed]
- Traynor, P.L. and J.H. Westwood. 1999. *Proceedings of a workshop on ecological effects of pest resistance genes in managed ecosystems*. Blacksburg: Information Systems for Biotechnology.
- Tunwar N.S. and S.V. Singh. 1988. Indian minimum seed certification standards. The Central Seed Certification Board Department of Agriculture and Cooperation, Ministry of Agriculture, Government of India, New Delhi.
- Víctor, D.G. and C.F. Runge. 2002. Farming the genetic frontier. *Foreign Affairs* 81:107–121.
- Wang, R., A. Stec, J. Hey, L. Lukens, and J. Doebley. 1999. The limits of selection during maize domestication. *Nature* 398:236–239
- Wellhausen, E., J. Roberts, L.M. Roberts, and E. Hernández X. 1952. *Races of maize in Mexico: Their origin, characteristics, and distribution*. Cambridge, MA: The Bussey Institution, Harvard University.
- Wilkes, H.G. 1977. Hybridization of maize and teosinte, in Mexico and Guatemala and the improvement of maize. *Economic Botany* 31:254–293.
- Wilkes, H.G., 1972. Maize and its wild relatives. *Science* 177:1071–1077.

- Wilkes, H.G. 1996. El teosinte en México: panorama retrospectivo y análisis personal. pp. 11–19. In: J.A. Serratos, M.C. Wilcox and F. Castillo G. *Flujo genético entre maíz criollo, maíz mejorado y teosinte: Implicaciones para el maíz transgénico*. México, D.F. CIMMYT.
- Zangerl, A.R., D. McKenne, C. L. Wrait, M. Carroll, P. Ficarello, R. Warner and M.R. Berenbaum. 2001. Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:11908–11912.

## **Apéndice I: Avances de los estudios sobre la posible introgresión de variedades transgénicas a variedades criollas de maíz en Oaxaca y Puebla, México**

A partir de la publicación de Quist y Chapela (2001), el INE y la Conabio encargaron a dos laboratorios de México realizar estudios más detallados para corroborar la posible introgresión de transgenes a maíces criollos de Oaxaca. Se hicieron colectas en este estado y en Puebla y se obtuvieron resultados de PCR, de actividad de la proteína Bt, de hibridación tipo Southern y de resistencia a BASTA. Los resultados disponibles hasta el momento apuntan a que sí hay transgénicos en los maíces criollos colectados. Este estudio está aún en proceso, sin embargo. Se esperan pronto los resultados definitivos.

## Apéndice II: Estrategias para prevenir la extinción de variedades de maíz y especies de teosintes

- Iniciar un programa de actualización de colecciones y de fortalecimiento de la infraestructura de los bancos de germoplasma tanto de teosinte como de razas locales de maíz. En las recolecciones es importante elaborar estrategias de muestreo que permitan estudiar la variación genética, la estructura genética espacio-temporal de algunas razas de maíz y teosinte. En este esquema de actualización de las colecciones se recomienda incorporar sistemas de información geográfica para el estudio de la diversidad y para la concentración de información, así como para la revisión de poblaciones de maíz y de la difusión de maíz transgénico y análisis de riesgo (LAMP, 1992; Sánchez *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 2001; Serratos *et al.*, 2001). Entre los criterios a considerar para establecer los posibles riesgos, debidos a la introducción de transgénicos, está la extensión que ocupa una raza, los riesgos de ser sustituida o eliminada, los riesgos de hibridizarse o adquirir transgenes que reduzcan su potencial agrícola o adaptabilidad a su medio agrícola por cercanía a la entrada de híbridos mejorados o transgénicos. Por ejemplo, los criollos están en mayor riesgo de desaparecer en los sitios en donde penetran los maíces híbridos de alto rendimiento, donde es más probable que entren las variedades transgénicas. También será importante considerar el riesgo de desaparición de razas endémicas de sitios en los que su siembra está en decremento por efectos de la migración de la población activa. En muchos sitios sólo quedan agricultores de más de 50 años cultivando maíz criollo. Será importante, por último, tener en mente que las razas son dinámicas en su constitución, pues resultan de una selección constante a condiciones ambientales y gustos (adaptación local) y un flujo conveniente que evita la depresión por endogamia y mantiene el vigor de una raza. Por lo tanto, debe haber un programa de actualización continua de los bancos de germoplasma.
- Será fundamental corroborar que las colecciones de los bancos de germoplasma nacionales e internacionales están libres de transgenes. Resultará muy importante contar con este material bien corroborado para posibles programas futuros de reintroducción de semilla libre de transgénicos en sitios en donde haya habido flujo de transgenes por hibridación o introgresión. En este sentido, se vuelve prioritario revisar, y adaptar a las circunstancias actuales, la metodología que siguen los bancos de germoplasma para asegurar que sus acervos no incorporen transgenes.
- A la par de la actualización de las colecciones es importante revisar y modernizar los criterios para determinar las razas de maíz y sus relaciones genéticas con los teosintes. En este último caso hay algunos avances citados arriba, pero aún no se conocen las relaciones genealógicas de las razas de maíz con base en marcadores moleculares. Estos datos serán referencia obligada para evaluar la posibilidad de eventos pasados de flujo génico entre variedades de maíz y entre éstas y sus parientes silvestres. Estos análisis genéticos deben sobreponerse a los criterios tradicionales con base en los caracteres morfológicos que se han usado para distinguir las razas de maíz. También es importante actualizar los criterios socioculturales que definen a las razas de maíz (ejemplo, gustos y tradiciones) y sobreponerlos con los criterios genéticos y morfológicos. Es muy importante contar con marcadores moleculares neutrales confiables con los cuales hacer las filogenias o genealogías de las razas para mapear sobre éstas los datos de variación morfológica y fisiológica. Esta información, además de aportar datos valiosos y muy interesantes sobre la historia evolutiva de la domesticación del maíz en México, puede servir de base para establecer criterios para la recolección y conservación de la diversidad de maíces y teosintes y evaluar el impacto de la introgresión en la biodiversidad del maíz en México. Las colecciones deben tener representado todo el rango de variación de una raza, incluidos individuos de poblaciones tanto simpátricas como alopátricas. Puede ser un ejercicio muy interesante comparar la variación genética y fenotípica (morfología y fisiología) dentro de las razas para localizar algunos genes que pueden ser responsables de diferencias fenotípicas importantes que se han seleccionado y fijado en las distintas razas. Es muy probable que la diferenciación genética entre las razas sea baja y que sólo algunos pocos genes sean responsables de las claras diferencias fenotípicas distinguidas por los agricultores. Dado que las diferencias genéticas entre razas debe ser pequeña, será importante montar un sistema de marcadores hipervariables (ej., microsátélites) para

poder detectar diferencias entre razas y sus relaciones genealógicas. Estos marcadores también serán importantes para evaluaciones de tasas de flujo génico (véase abajo).

- Considerando que las especies silvestres de *Zea* representan menos del 2 por ciento con relación a las colecciones de maíz en los bancos de germoplasma de México y a la desaparición, fragmentación y reducción del tamaño de algunas poblaciones de teosinte, es muy importante impulsar un programa especial de recolección exhaustiva, conservación *in situ* y *ex situ* y monitoreo sistemático de los teosintes en México. Adicionalmente, se deberá obtener la información necesaria que permita identificar los factores ambientales que afectan las poblaciones naturales; asimismo deberá entenderse más acerca de la percepción de los agricultores hacia el teosinte, incluidas sus prácticas para fomentar o eliminar las poblaciones.
- Establecer una red de bancos de germoplasma regionales con capacitación técnica local que controlen el acceso y la extracción de germoplasma del banco y de las áreas naturales a otros sitios de México y fuera del país. Con este sistema será importante fomentar una mayor retroalimentación entre los programas de conservación *in situ* y *ex situ*.
- Establecer un esquema de prioridades para asignar recursos a la conservación de razas de maíz con mayor riesgo de desaparecer. También será importante crear un sistema de incentivos económicos para favorecer que los campesinos conserven sus variedades criollas puras y viables, pero libres de transgénicos (evitando, por ejemplo, las cruces con híbridos mejorados no bien identificados o maíces de las tiendas rurales). Por tanto, será muy valioso echar a andar un sistema de monitoreo para corroborar que el maíz que llega al campo está libre de transgenes.
- Iniciar un esquema de revisión espacio-temporal de la entrada y diseminación de transgenes en México. Como parte de esta acción será muy importante mantener una inspección sistemática que evite que los bancos de germoplasma se conviertan en "dispersores" de transgénicos.
- Dada la precariedad de la conservación de muchos teosintes en México, se propone que todos los teosintes sean considerados especies en peligro de extinción. Incorporar los teosintes a la lista de CITES Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres). Promover reservas naturales para la conservación de los teosintes. En México la única reserva *in situ* para un maíz silvestre es la de la sierra de Manantlán, Jalisco, para *Zea diploperennis*. Por esa razón se deberán promover reservas para otros teosintes y condiciones que también favorezcan la conservación de las razas de maíz en el campo.

### **Apéndice III: Resistencia a antibióticos de plantas transgénicas**

El desarrollo de bacterias resistentes a antibióticos no es un problema nuevo, pero sí es un problema creciente relacionado con el uso indiscriminado de los antibióticos (Kruse y Sørum, 1994). Las construcciones transgénicas insertadas en plantas contienen normalmente un gen que hace a las plantas transgénicas resistentes a algún antibiótico. De tal manera que este gen de resistencia se usa como marcador durante el proceso de generación de la variedad transgénica al permitir seleccionar las células o individuos que han incorporado el transgén cuando se las cultiva en presencia del antibiótico idóneo, ya que solamente las transgénicas crecerán en este medio. Una vez seleccionadas las células transformadas, los marcadores han cumplido su función en el proceso tecnológico y ya no son necesarios. Sin embargo, las plantas transgénicas generadas con esta tecnología mantienen el gen marcador y lo expresan. Hasta ahora, casi todas las variedades transgénicas liberadas al ambiente tienen algún gen de resistencia. Los nuevos desarrollos prescindirían de estos genes en las variedades finales. Para ello, los genes marcadores se insertan entre dos secciones homólogas que muestran fuerte atracción entre sí. Durante la meiosis celular, al momento de la recombinación, se promueve la separación del fragmento de DNA marcador entre ambas secciones homólogas, debido a que éstas se unen por sus bases complementarias (Meyer, 2000). Otra forma de mitigar los posibles riesgos derivados de la expresión de genes de resistencia a antibióticos en las variedades transgénicas es disminuir el espectro de marcadores utilizados, para a su vez disminuir la probabilidad de generar resistencias múltiples difíciles de controlar; esto es posible y conveniente si no se requiere retransformar un OGM.

## Apéndice IV: Transferencia horizontal y estabilidad de las inserciones en las plantas transgénicas

El mejoramiento tradicional de variedades vegetales, ‘mezclando’ (favoreciendo la hibridación) artificialmente genomas enteros de variedades distintas de plantas o animales y luego seleccionándolas implica riesgos distintos a los que implica la generación de nuevas variedades transgénicas por medio de la tecnología del ADN recombinante. Ésta permite la introducción de genes que han evolucionado en un contexto totalmente distinto al de su organismo receptor y que trasciende las barreras reproductivas fijadas a través del proceso evolutivo. Por lo tanto, debe de evaluarse científicamente el efecto de la biotecnología en, por ejemplo, la posibilidad de que ésta aumente la probabilidad de transferencia horizontal o de que la que ocurre naturalmente abra la posibilidad de dar origen a nuevos virus potencialmente patógenos, como se ha discutido en otros apartados (véanse revisión y ejemplos en Ho *et al.*, 1999; 2000a; 2000b).

Relacionado con este punto está la pregunta: ¿tendrá algún efecto el uso de ADN que contienen zonas de recombinación elevada en la adecuación de las construcciones introducidas al genoma, o en los organismos que lo conllevan?). Esta pregunta debería de ser resuelta antes de realizar experimentos de contexto (por ejemplo, ¿cuál es el efecto sobre la probabilidad de reproducción y sobrevivencia de la planta receptora, el contexto genómico de una inserción, por ejemplo la proximidad de los transgenes a otras regiones genómicas pueden alterar su nivel de expresión. Tal es el caso de la asociación con secuencias reguladoras, asociación con cromatina, etc.?). Por ejemplo, se sabe que los promotores usados – (véase adelante) en prácticamente todos los desarrollos biotecnológicos en plantas se constituyen en sitios de mucha recombinación, alterando así las probabilidades de recombinación de los sitios de inserción de transgenes (Kohli *et al.*, 1999). Esto hace difícil predecir cual va a ser la segregación genética de los transgenes y por tanto su dinámica evolutiva.

Hay muy poca evidencia con respecto a estas interrogantes. En particular, el artículo de Kohli *et al.* (1999) habla de una zona de alta recombinación dentro del promotor 35S de CMV en plantas transgénicas de arroz. El tipo de recombinación estudiado es plásmido-plásmido, es decir, recombinaciones entre los plásmidos utilizados durante la transformación de la planta por medio de biobalística. En este estudio se observó que ciertas secuencias de los plásmidos involucrados en la transformación del promotor recombinaron a través del promotor 35S con mecanismos tanto de microhomología como de recombinación ilegítima. En otros estudios (Srivastava *et al.*, 1996) se observó que las secuencias transgénicas se eliminaron en el curso de unas cuantas generaciones, quizás debido a inestabilidades estructurales ocasionadas por la recombinación entre las múltiples copias de los transgenes. Queda por estudiar si la pérdida de transgenes conlleva pérdida de genes de la planta.

## **Apéndice V: Riesgos asociados a la generación de transgénicos que producen fármacos o sustancias de uso industrial**

Existe una tendencia a desarrollar cultivos genéticamente modificados para fines distintos a la alimentación humana o animal. Por ejemplo, existen en Estados Unidos solicitudes de patente para la producción a gran escala de fármacos o químicos de uso industrial. Estos casos representan enormes retos para los que regulan los OGM debido a que se debe anticipar cuáles son los posibles efectos de cualquier residuo químico de estos cultivos inéditos sobre la biodiversidad, el suelo o la calidad del agua —en particular en los casos en que estos químicos no se degraden rápidamente o sean bioacumulables. Se vislumbra un problema sumamente grave para los casos en los que existe la posibilidad de que ciertos químicos o fármacos pudieran entrar en la red trófica si el polen de los cultivos transgénicos industriales no aptos para consumo llega a los cultivos para uso alimenticio o a sus parientes silvestres, o si las semillas de los primeros se mezclaran con las de los segundos. El connotado caso del maíz genéticamente modificado StarLink es ejemplo de cómo, pese a la regulación, un producto aprobado únicamente para consumo animal puede llegar a la cadena alimenticia humana incluso en países con regulaciones claramente establecidas y aplicadas de manera estricta. En México, las normas de regulación de transgénicos están apenas en proceso de evaluación, y su ejecución implica retos muy grandes ante la falta de control sobre el uso y distribución de semillas y la diversidad de realidades ecológicas, agrícolas y ambientales en donde se usan. Basta imaginar las graves consecuencias que generaría el que un producto genéticamente modificado como el “maíz anticonceptivo”, que expresa anticuerpos que atacan el esperma humano (Víctor y Runge 2002), llegara por flujo génico accidental a la cadena de consumo y las mesas de miles de casas. Sería imperativo discutir la posibilidad de que escapes de este tipo de nuevos desarrollos ocurran, incluso antes de su desregulación en Estados Unidos.

---

Gráfica 1. Mapa de distribución de razas criollas de maíz y teosintes, y niveles de producción de maíz en México. (Fuente: Serratos, en prep.)