


"Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México"

Convenio No. INECC/AI-003/2017

Informe Final



2018

Coordinación General de Contaminación y Salud Ambiental



Preparado para la:

Coordinación General de
Contaminación y Salud
Ambiental del Instituto
Nacional de Ecología y Cambio
Climático

Bld. Adolfo Ruiz Cortines No. 4209.
Col. Jardines en la Montaña. Tlalpan,
C.P. 14210 Ciudad de México
Tel. +52 (55) 54246400.

www.inecc.gob.mx

Noviembre de 2018

DIRECTORIO

Dra. María Amparo Martínez Arroyo

Directora General del INECC

Dr. J. Víctor Hugo Páramo Figueroa

Coordinador General de Contaminación y Salud Ambiental

Dr. Arturo Gavilán García

Director de Investigación sobre Contaminación, Sustancias, Residuos y Bioseguridad

SUPERVISIÓN GENERAL Y SEGUIMIENTO DEL ESTUDIO

Dr. Arturo Gavilán García

Director de Investigación sobre Contaminación, Sustancias, Residuos y Bioseguridad

D. R. © Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Febrero 2017

Blvd. Adolfo Ruiz Cortines No. 4209. Col. Jardines en la Montaña. Tlalpan, C.P. 14210 Ciudad de México

<http://www.inecc.gob.mx>



INSTITUTO
DE ECOLOGÍA
UNAM

“Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México”

INFORME FINAL

Número de Convenio: INECC/AI-003/2017

Elaboró: Dra. Elena Álvarez-Buylla

Laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas
Instituto de Ecología (Dpto. de Ecología Funcional)
3er Circuito Exterior, Junto a Jardín Botánico
CU, Coyoacán, México DF 04510
Tel/Fax: 52-55-56229013

**Dirigido a: Coordinación General de
Contaminación y Salud Ambiental. Instituto
Nacional de Ecología y Cambio Climático.**

Noviembre de 2018

Resumen ejecutivo

Esta investigación se enfocó en llevar a cabo un muestreo estratificado y geográficamente representativo de los maíces nativos sembrados en 5 estados del país que en conjunto contienen una parte importante de las razas (variedades) nativas de maíz en México, con el fin de evaluar la posible presencia y distribución de secuencias transgénicas en cada estado bajo estudio. Los estados seleccionados para esta investigación fueron la Ciudad de México, Michoacán, Oaxaca, Chiapas y Veracruz. Para elaborar el esquema de muestreo se utilizaron los datos disponibles en las bases de datos del INEGI y el SIAP entorno al área de agricultura de temporal por municipio, el tamaño de las localidades rurales y la extensión aproximada de áreas sembradas con maíz, entre otros, para generar un algoritmo que aleatoriamente seleccionó un número de localidades espacialmente distribuidas dentro de cada estado. En total, se visitaron cerca de 400 localidades, entrevistando a 1180 agricultores quienes donaron 1633 muestras de distintos lotes de maíz. Las muestras de lotes de semilla de maíz donadas por los agricultores fueron analizadas en el laboratorio para establecer si había presencia de secuencias transgénicas en las mismas. Del total de muestras donadas, se pudo extraer ADN de 1580 muestras, las cuales fueron analizadas mediante RT-PCR para determinar la presencia de dos marcadores de transgénesis en maíz: un fragmento del Promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (p35S) y un fragmento del Terminador de la Nopalina-sintetasa de *Agrobacterium tumefaciens* (T-Nos). Las muestras positivas para p35S y/o T-Nos fueron posteriormente analizadas para los eventos específicos MON810, NK603 y TC1507. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: 1455 (92.1 %) de las muestras analizadas resultaron negativas para la presencia de marcadores de transgénesis, mientras que 125 (7.9 %) amplificaron el p35S y/o el T-Nos. De las muestras positivas, 43 amplificaron el p35S, 101 amplificaron el T-Nos, mientras que para los eventos específicos, 2 muestras amplificaron para MON810; 8 muestras fueron positivas para NK603 y 8 para TC1507. El porcentaje de muestras positivas para la presencia de transgenes en los estados analizados presentó variaciones importantes, representando el 2.3% en la CDMX, el 4.7% en Michoacán, 6.5% en Oaxaca, 12.3% en Chiapas y 14.9% en Veracruz. Para este último estado, es importante señalar que el muestreo fue representativo para estimaciones de genética de poblaciones, pero no para establecer frecuencias representativas del estado, ya que se lograron coleccionar pocas muestras, por cuestiones de inseguridad en campo y fenómenos climáticos. Esta situación estuvo también presente en Michoacán. Este trabajo establece una línea base geográficamente distribuida y representativa de la presencia y distribución de secuencias transgénicas a nivel de estado en la CDMX, Oaxaca y Chiapas, mientras que es un muestreo representativo a nivel de genética de poblaciones, para Michoacán y Veracruz. Se sugiere realizar posteriores esfuerzos de biomonitorio enfocados a establecer frecuencias a nivel de regiones particulares en cada estado con la finalidad de obtener un conocimiento más profundo de las dinámicas locales que puedan haber favorecido la dispersión de transgenes en zonas específicas de cada estado. Sin embargo, la información vertida aquí permite adoptar medidas de bioseguridad conducentes a disminuir la probabilidad de flujo de transgenes hacia los acervos de maíz nativo, considerando el contexto social en el cual se practica la agricultura con este tipo de materiales. El muestreo estratificado y geográficamente representativo implementado en los cinco estados bajo estudio, puede servir como guía para diseñar planes de monitoreo para la detección de secuencias transgénicas en variedades de maíz nativo e híbridos comerciales en otros estados de la República. Los resultados de esta investigación aportan datos actuales que pueden ser utilizados para la planificación de políticas públicas en materia de bioseguridad del alimento básico mexicano, el que resulta crucial para apoyar la economía campesina, promover la soberanía alimentaria y reducir la vulnerabilidad del sector rural frente a retos como el cambio climático.

Executive summary

This research focused on collecting native maize varieties or landraces in five states in Mexico which together harbor the majority of the reported landraces for the country, in order to assess the possible presence of transgenic sequences in a representative and geographically distributed sample of maize seed lots. The states chosen for this study were Mexico City, Michoacán, Oaxaca, Chiapas and Veracruz. The collection scheme was elaborated using data from the INEGI and SIAP databases pertaining extension of rainfed area per municipality, size and distribution of rural localities and area sowed with maize, among other data. This information allowed for the generation of an algorithm that randomly selected a representative number of points of geographically distributed localities per state. In total, about 400 localities were visited, interviewing 1180 farmers who donated 1633 maize seed lot samples. Donated seed samples were analyzed in the lab to assess the potential presence of transgenic sequences. Of the total seed samples donated, we were able to extract DNA from 1580 samples, which were analyzed by RT-PCR for the presence of the 35S promoter of the Cauliflower Mosaic Virus (p35S) and/or the Nopaline synthase terminator from *Agrobacterium tumefaciens* (T-Nos), two commonly used sequences in maize transgenics. Samples positive for either of these markers were further analyzed for three events: MON810, NK603 and TC1507. Our results were as follows: 1455 (92.1%) of analyzed samples were negative for the presence of transgenic markers while 125 (7.9%) amplified the p35S and/or the T-Nos. Within positive samples, 43 amplified the p35S; 101 amplified the T-Nos marker, while only 2 samples amplified a fragment of MON810, and 8 each amplified the NK603 and the TC1507. The percentage of positive samples across states was quite variable, with 2.3% of samples from Mexico City amplifying a transgene, 4.7% in Michoacán, 6.5% in Oaxaca, 12.3% in Chiapas and 14.9% in Veracruz. For the latter state it must be stressed that the sampling effort was big enough to allow for population genetics estimations, but not so for state-wide transgene distribution and frequency estimation. In this state and in Michoacán, insecurity for collectors and climatic phenomena hindered collection efforts. This work sets a base line regarding the presence and geographic distribution of transgenic sequences for the states of Mexico City, Oaxaca and Chiapas, while it provides a representative sample for Michoacán and Veracruz. We suggest that further biomonitoring research focused on establishing transgene frequencies within particular regions would be useful to further understand the dynamics that have led to transgene dispersal in particular zones of each state. Nonetheless, the data presented here enables the adoption of biosafety measures focused on decreasing the probability of further transgene dispersal into native maize seed lots, taking into account the social context in which agriculture with this type of materials is practiced. The stratified and geographically representative sampling scheme implemented in this work could help establish future biomonitoring efforts aimed at detecting the presence of transgenes in native maize varieties and hybrids in other states of Mexico. Furthermore, the data and results of this investigation provide updated information that can help plan public policy efforts on the biosafety of Mexico's staple crop, which is central for peasant economy, food sovereignty and the reduction of social vulnerability in the face of challenges posed by climate change.

Contenido

	Pág.
1. Antecedentes	1
1.1 Contexto de la agricultura del maíz y la importancia del maíz en México	1
2. Actividades	2
2.1 Plan de trabajo y características particulares de los productos	2
2.1.1 Plan de trabajo	2
2.1.2 Características de los productos del proyecto	4
2.2 Calendario de reuniones para la definición de actividades y productos, así como para la revisión de los avances del proyecto	5
3. Determinación de los sitios prioritarios en cinco estados de la República Mexicana para la implementación del monitoreo de presencia de transgenes	5
3.1 Selección las unidades muestrales en los sitios prioritarios	10
4. Resultados	10
4.1 Toma de muestras en campo y bitácora	10
4.2 Aplicación de la encuesta a los agricultores que donaron las semillas colectadas	17
4.3 Variedades de maíz muestreadas y sistematización y análisis de las encuestas/hojas de colecta	17
4.3.1 Chiapas	17
4.3.2 Ciudad de México	23
4.3.3 Michoacán	29
4.3.4 Oaxaca	33
4.3.5 Veracruz	40
4.4 Acondicionamiento de las muestras colectadas y optimización de los protocolos de laboratorio	44
4.4.1 Acondicionamiento de las muestras colectadas	44
4.4.2 Optimización de los protocolos de PCR y químicas utilizadas para el análisis de muestras reportadas	45
4.5 Sistematización y análisis de la información de los resultados de laboratorio	50
4.6 Determinación de la frecuencia de transgenes y diagnóstico sobre el estado de la presencia de maíz GM en los sitios prioritarios de los estados bajo estudio	53
4.6.1 Chiapas	53
4.6.2 Ciudad de México	55
4.6.3 Michoacán	57
4.6.4 Oaxaca	59
4.6.5 Veracruz	61
4.6.6 Observaciones sobre los análisis moleculares realizados	62
4.7 Nota sobre los recursos para la ejecución del proyecto	64
5. Referencias	64

1. Antecedentes

1.1 Contexto de la agricultura del maíz y la importancia del maíz en México

Mesoamérica es considerado como centro de origen y domesticación de varias plantas cultivadas a nivel mundial (Casas y Caballero, 1995), entre ellas se encuentra el maíz (*Zea mays* L.) que se originó y diversificó, según la teoría más aceptada, mediante procesos de domesticación a partir de un teocintle anual mexicano (*Zea sp.*) (Kato *et al.*, 2009). México es considerado el centro mundial de diversificación del maíz con miles de variedades locales agrupadas en razas, el número de razas identificadas ha ido aumentando de 25 a 62 de acuerdo con el estudio o el autor (Boege *et al.*, 2008). Este cultivo es parte nodal del patrimonio biocultural de la nación y es el eje articulador de la actividad campesina y agrícola de México (Álvarez-Buylla *et al.*, 2013a).

Alrededor de 5.5 millones de agricultores producen anualmente entre 20-25 millones de toneladas de maíz, que equivalen al 60% del total de granos producidos en el país, utilizando 7.5 millones de hectáreas, bajo condiciones de riego y temporal con rendimientos de 1.9 ton/ha y de 4.5 ton/ha respectivamente (SIAP 2018). La producción media de maíz blanco es de 22,3 millones de toneladas, mientras que de maíz amarillo es de 3,0 (SIAP, 2018), destaca que el 75% de los productores siembran variedades nativas (Trejo, 2014). En 2015, México importó alrededor de 880 mil toneladas de maíz blanco en su totalidad desde Estados Unidos y alrededor de 10 millones de toneladas de maíz amarillo, 99.68% provenientes de Estados Unidos y el resto de Brasil (SAGARPA, 2015).

Este grano es la base de la alimentación de la población mexicana, el consumo anual *per cápita* en México es de 123 kg, aproximadamente 10 veces mayor que el de Estados Unidos (Serna-Saldívar y Amaya-Guerra, 2008), mientras que el promedio mundial es de 16.8 kg al año (Trejo, 2014).

En el año 2000, investigadores de la Universidad de Berkeley, detectaron secuencias transgénicas en maíces nativos en comunidades de la sierra de Oaxaca (Quist y Chapela, 2001). Posteriormente se detectó la presencia de maíz transgénico

en otros estados del país (Dyer *et al.*, 2009; Piñeyro-Nelson *et al.*, 2009; Serratos-Hernández *et al.*, 2007), lo que confirmó que a pesar de la moratoria a la siembra y experimentación con granos transgénicos implementada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) desde 1999 (Serratos-Hernández, 2009), las variedades genéticamente modificadas habían logrado penetrar a regiones remotas del país.

Es un hecho comprobado que existe flujo génico de maíces genéticamente modificados hacia las variedades nativas, lo cual representa un riesgo para el país que es centro de origen y diversidad de esta especie, no es posible la coexistencia entre ambos tipos de cultivo (Turrent-Fernández *et al.*, 2009). Se debe reforzar el principio precautorio para proteger la integridad ecológica y evolutiva de la biodiversidad natural (Pimentel *et al.*, 2000), esto debe partir de la prevención de la propagación de organismos GM en el ambiente. También son necesarias herramientas regulatorias más severas para rechazar la liberación de organismos transgénicos que no pueden ser controlados en su dimensión espacio-temporal, especialmente si tienen consecuencias no intencionadas a largo plazo (Bauer-Panskus *et al.*, 2015).

2. Actividades

2.1 Plan de trabajo y características particulares de los productos

2.1.1 Plan de trabajo

La realización del proyecto “Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México” se realizó en 12 etapas que comprenden:

- A) El diseño del esquema de muestreo aleatorizado y estratificado a partir de la consideración de la situación agronómica, socioeconómica, de biodiversidad de maíz en las regiones de México que cuentan con la mayor diversidad de maíces; tales regiones se encuentran principalmente en los estados de Michoacán, Oaxaca, Chiapas, Veracruz y la zona de suelo de conservación de la Ciudad de México.

- B) A partir del diseño del muestreo realizado se consideraron las regiones prioritarias a muestrear en dichos estados.
- C) El periodo de cosecha de maíz abarca los meses de noviembre a febrero, la ejecución del proyecto “Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México” abarca de noviembre de 2017 a noviembre de 2018. Esto permitió obtener muestras de maíz correspondientes a la cosecha del ciclo 2017 en los hogares ubicados en las zonas determinadas como prioritarias¹.
- D) Se obtuvo información acerca de cada una de las muestras colectadas, así como de los agricultores entrevistados, dicha información fue registrada en un formato actualizado.
- E) La información recabada fue vaciada en una base de datos que posteriormente fue sistematizada y analizada.
- F) Durante el periodo de colecta de muestras de maíz de las diferentes regiones bajo estudio, se realizaron reuniones periódicas de seguimiento junto con el personal del INECC.
- G) Las muestras de maíz colectadas fueron transportadas al laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas del Instituto de Ecología de la UNAM para su procesamiento, pesado, molido y análisis molecular, conforme fue transcurriendo el periodo de colecta. Una parte del análisis molecular fue realizado en laboratorios del Departamento de Producción Agrícola y Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, bajo la coordinación de la Dra. Alma Piñeyro.
- H) Se realizaron informes técnicos en los que se vació la información sobre la ejecución del proyecto a medida que este se fue ejecutando.
- I) Se estudiaron los resultados de los análisis moleculares realizados a las muestras de maíz colectado, así como de los análisis de los datos de las encuestas y fichas de muestreo.
- J) Una vez realizados los análisis de la información y los resultados obtenidos de los análisis moleculares, se realizó una reunión de discusión de los resultados junto con el personal del INECC.

¹ En el caso de Michoacán se aprovecharon adicionalmente muestras del ciclo 2016, colectadas entre 2016 y 2017 previo al estudio del INECC, por el equipo de la Dra. Patricia Delgado Valerio, de la Facultad de Agrobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

K) Se elaboró el presente documento en el que se analiza y discute el estado de la presencia de secuencias transgénicas en México, particularmente en las zonas previamente muestreadas.

2.1.2 Características de los productos del proyecto

- Como parte de la elaboración del proyecto “Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México” se presentaron tres informes parciales, así como el presente informe final.
- Se entregan las representaciones cartográficas de los Estados de la República en los que se plasman las regiones consideradas como prioritarias, en las cuales fue realizado el muestreo. En tales representaciones se ubica a nivel de localidad y municipio los sitios de presencia de transgenes en los maíces muestreados.
- Se entrega el análisis de los resultados de los ensayos de detección; el análisis de la frecuencia de transgenes en los estados; y el diagnóstico sobre el estado de la presencia de maíz GM en los sitios elegidos como prioritarios.
- Se entrega el análisis de los datos de las encuestas/fichas de colecta.
- Se entrega la sistematización del registro de las variedades de maíz colectadas y la compilación de los datos de las encuestas/fichas de colecta en una base de datos (Anexo 1 en CD).
- Se entrega la sistematización de los resultados de la presencia de secuencias recombinantes en las muestras de maíz colectado y analizado molecularmente en una base de datos (Anexo 2 en CD).
- Se entrega una bitácora de campo de la etapa de muestreo en los cinco estados (Anexo 3 en CD).

2.2 Calendario de reuniones para la definición de actividades y productos, así como para la revisión de los avances del proyecto

Se realizaron reuniones de seguimiento con el personal del INECC a lo largo de la ejecución del proyecto (Tabla 1).

Tabla 1. Calendario de reuniones de seguimiento

Objetivo	Fecha	Lugar
Definición y programación de actividades del proyecto “Monitoreo de la presencia de secuencias transgénicas en cultivos de maíz en sitios prioritarios de México”	13 de octubre de 2017	Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático
Reunión de coordinación con geógrafos para análisis de regiones de muestreo de maíz en las entidades seleccionadas	12 de enero de 2018	Centro de Ciencias de la Complejidad-UNAM
Visita a comunidades del área de Suelo de conservación de la Ciudad de México elegidas para el muestreo para explicación de proyecto	25 de enero de 2018	Santa Ana Tlacotenco, Milpa Alta, Ciudad de México
Reunión de coordinación con personal del Instituto de Ecología-UNAM para revisión de protocolos de llegada de muestras de maíz al laboratorio y protocolos de procesamiento y análisis de muestras de maíz	26 de enero de 2018	Instituto de Ecología-UNAM
Reuniones de seguimiento para la revisión de los avances del proyecto en Oaxaca	23-25 de abril de 2018	Oaxaca, Oax.
Reuniones de seguimiento para la revisión de los avances del proyecto en Chiapas	27-29 de abril de 2018	San Cristobal de las Casas, Chis.
Reuniones de seguimiento para la revisión de los avances del proyecto en Michoacán	12-13 de junio de 2018	Morelia, Mich.
Reuniones de seguimiento para la revisión de los avances del proyecto en Veracruz	15-16 de junio de 2018	Xalapa, Ver.
Seguimiento del periodo de muestreo de maíces en las regiones prioritarias de los cinco estados de la República Mexicana elegidos	29 de junio de 2018	Instituto de Ecología-UNAM
Seguimiento del avance de la sistematización de la información recabada durante el proceso de muestreo	20 de septiembre de 2018	Centro de Ciencias de la Complejidad-UNAM
Seguimiento del avance de los resultados de la etapa de análisis molecular de las muestras de maíz colectadas en campo	01 de octubre de 2018	Centro de Ciencias de la Complejidad-UNAM
Seguimiento del avance en el análisis de los resultados de los ensayos de detección y de los datos de encuestas/ficha de colecta	17 de octubre de 2018	Instituto de Ecología-UNAM
Seguimiento del avance del diagnóstico del estado de la presencia de transgenes en los sitios prioritarios y de la preparación del informe final	01 de noviembre de 2018	Tlalpan, Ciudad de México

3. Determinación de los sitios prioritarios en cinco estados de la República Mexicana para la implementación del monitoreo de presencia de transgenes

Los estados seleccionados para este estudio debido a su riqueza de razas de maíz (CONABIO, 2011a) fueron: Chiapas, Ciudad de México, Oaxaca, Veracruz y Michoacán. El esquema de muestreo de localidades empleado fue aleatorio considerando una probabilidad de distribución uniforme. El objetivo fue tener una

representatividad espacial sobre toda la superficie de temporal de los cinco estados en estudio (Figura 1). La base de datos con la que se trabajó para obtener los puntos de muestreo está integrada por información de las localidades del INEGI (2010) y los registros de 1970–2010 de razas nativas de maíz del proyecto de maíces de la CONABIO (2011b). Únicamente se tomaron en cuenta los puntos de ambas bases que coincidían con la superficie de agricultura de temporal (INEGI, 2010).

De un total de 34474 se asignaron diferentes pesos a los diferentes puntos de la base debido a que el área registrada de agricultura de temporal no está dividida por tipos de cultivo. Los pesos ayudaron a aumentar la probabilidad de que en los puntos a muestrear se siembre maíz. Se asignó un peso de 3 a aquellos registros de razas nativas de maíz que se empalman con las áreas de agricultura de temporal (Figura 2). Una segunda categoría con peso de 2 (Figura 3), fue asignado a las localidades del INEGI dentro de la superficie de agricultura de temporal que coincide a una escala de municipio con algún registro de maíz nativo.

Finalmente, el peso de 1 se asignó a las localidades del INEGI que están dentro de la superficie de temporal, pero que no coinciden a una escala municipal con ningún registro de maíz nativo. El muestreo buscó entonces maximizar la suma total de los pesos de las localidades seleccionadas sin perder representatividad espacial. Se escogieron 704 localidades (Figuras 4 y 5) en los cinco estados. La distribución de estas localidades entre los estados se hizo en función de la superficie sembrada con cultivo de temporal en cada estado (Tabla 2).

Tabla 2. Superficie de área agrícola temporal por estado y su número correspondiente de localidades a muestrear

Estado	Superficie de temporal (ha)	Número de localidades
Ciudad de México	34394	40
Chiapas	1370474	144
Michoacán	1186280	125
Oaxaca	1507956	159
Veracruz	2242464	236

Para el caso específico de la CDMX, la aplicación del modelo arrojó un total de cuatro localidades que resultaba muy bajo por lo que se incrementó el número de localidades a 40 manteniendo los criterios establecidos.

Superficie de agricultura de temporal

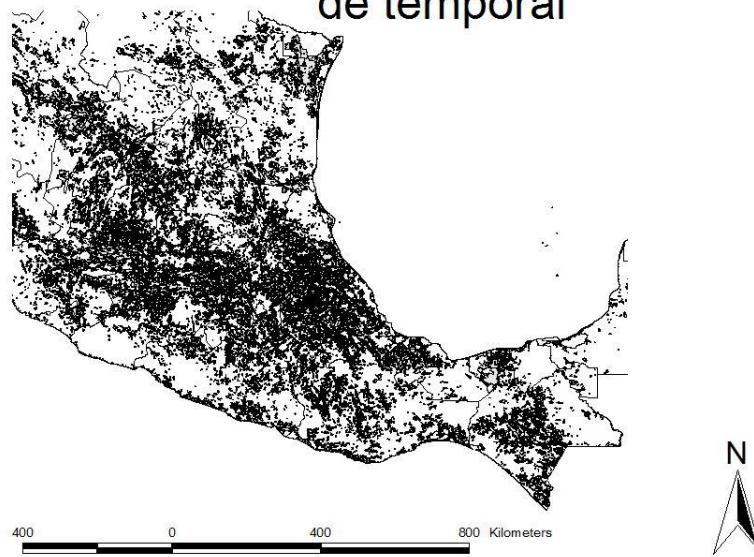


Figura 1. Superficie Agrícola de Temporal que se utilizó para determinar número de localidades por estado

Localidades correspondientes al Peso 3

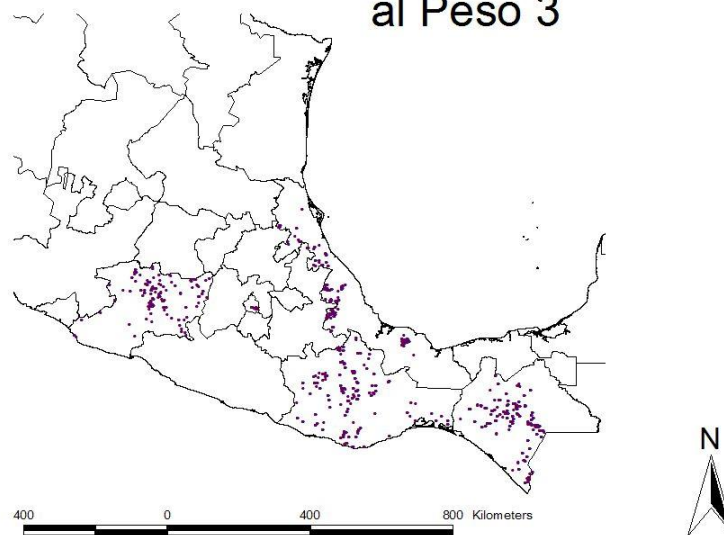


Figura 2. Presencia de maíz nativo en superficie de temporal

Localidades correspondientes al Peso 2

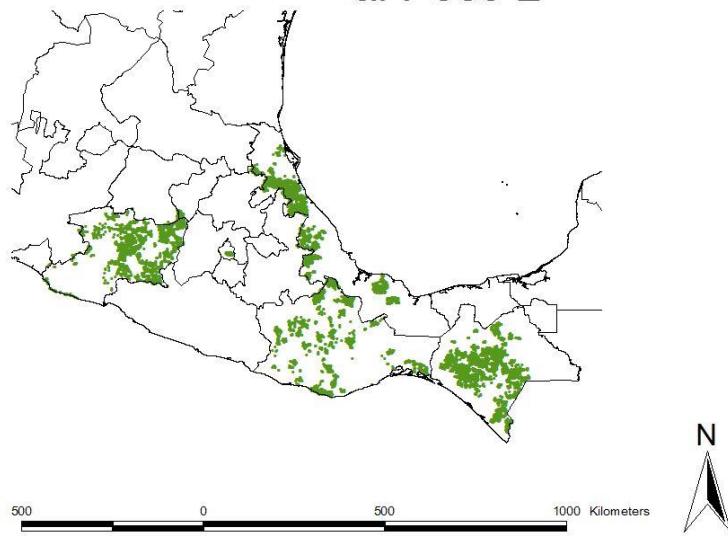


Figura 3. Localidades del INEGI que coinciden a nivel municipal con alguna raza nativa en superficie de temporal

Propuesta de muestreo aleatorio uniforme para 5 estados

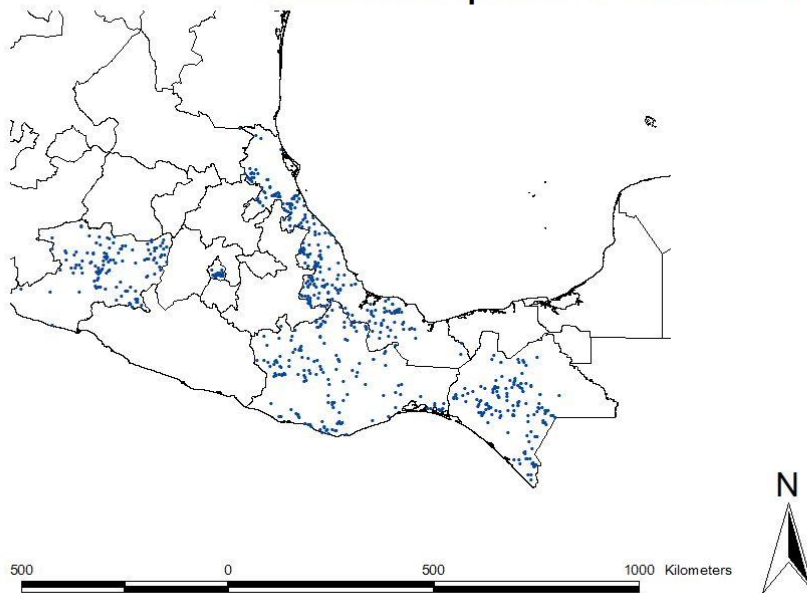


Figura 4. Propuesta actual de muestreo para un biomonitoreo a mediano y largo plazo

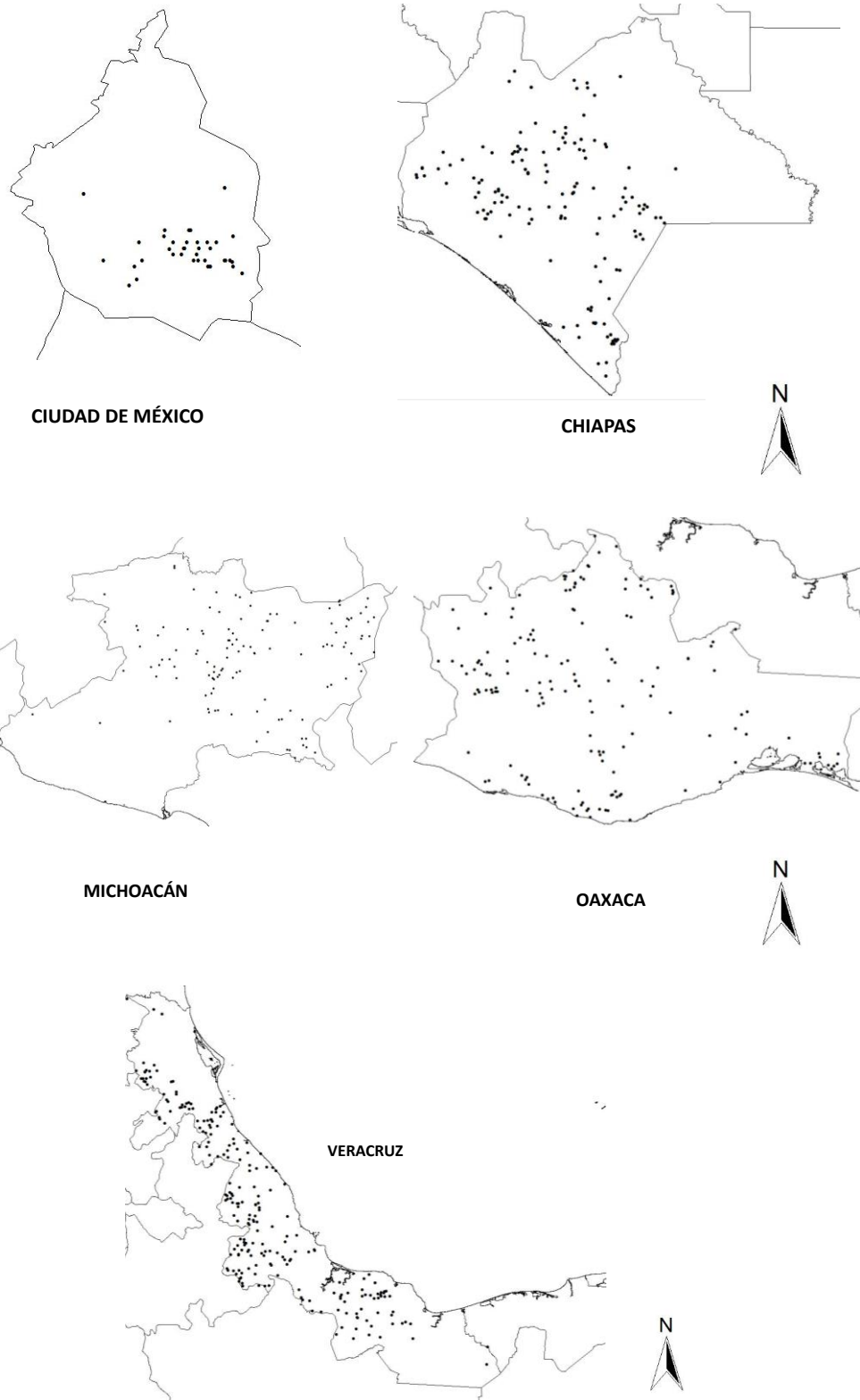


Figura 5. Localidades del muestreo aleatorio por estado

3.1 Selección las unidades muestrales en los sitios prioritarios

La unidad muestral está representada por el agricultor/unidad de producción. Para garantizar la representatividad del diseño de muestreo, se seleccionaron tres familias/hogares por localidad y se colectaron 10 mazorcas por familia/hogar, o bien en caso de encontrar el maíz desgranado se colectó 500g por variedad manejada por las familias/hogares. Todas las muestras fueron etiquetadas con una clave que corresponde con el formato de colecta y encuesta aplicada.

4. Resultados

4.1 Toma de muestras en campo y bitácora

El mayor esfuerzo de muestreo se procuró efectuar en los meses de febrero a julio, sin embargo por cuestiones de logística y las condiciones propias de las regiones en las que se aplicó el monitoreo (retrasos por cuestiones de seguridad o condiciones climáticas que se explican más adelante) se tuvo que extender hasta el mes de octubre. El seguimiento del trabajo en campo fue registrado en una bitácora anexa al documento (Anexo 3 en CD).

Para el monitoreo de maíces nativos en los sitios seleccionados como prioritarios, se tomó como base el diseño de muestreo de localidades aleatorio propuesto previamente; ya en campo se procedió a contactar a los productores de los poblados a los que pertenecen las localidades.

Cabe mencionar que hubo algunas localidades a las que no se tuvo acceso por motivos de seguridad o bien debido a cambios que han sucedido en la superficie de temporal posterior a los datos integrados en las bases de datos a partir de las cuales se hizo el diseño. Otra circunstancia detectada en repetidas ocasiones en cada uno de los estados bajo muestreo, fue la falta de precisión en el nombre de algunas localidades en la base de datos del INEGI que no coincidía con el nombre de la localidad en el punto geográfico seleccionado para el muestreo. A su vez, en algunas ocasiones las bases de datos utilizadas como insumo para definir el muestreo (INEGI y

CONABIO), marcaban como zonas de producción maicera a regiones donde actualmente se cultivan cítricos u otros cultivos perennes.

En los estados de Chiapas, Ciudad de México y Oaxaca, en los casos donde se presentó alguno de los fenómenos mencionados anteriormente, se recurrió a la colecta de maíz en localidades cercanas a la localidad original, por lo que se mantuvo el esfuerzo de muestreo por Estado arrojado por el modelo y la representatividad espacial sobre la superficie de temporal de cada Estado.

Es importante destacar que en la Ciudad de México se encontró que en algunos pueblos que poseen territorio dentro del suelo de conservación de la Ciudad, hay un avance importante de la marcha urbana y un abandono del quehacer campesino, favorecido en parte por la venta de terrenos a personas de fuera que tienen interés por edificar casas habitación y otro tipo de inmuebles, mientras que por parte de los pobladores originarios hay una falta de interés por continuar con labores agrícolas. Esto afecta particularmente a las generaciones más jóvenes, quienes migran o se emplean en otras partes de la Ciudad de México. Otro fenómeno observado fue la escasez de semilla en algunas localidades, en particular, una fracción de los productores contactados ya habían sembrado y el grano o elote que se tenía en ese momento ya estaba destinado para otros usos, motivo por el cual donaban poca semilla para los análisis moleculares. En otros lugares, hubo renuencia por parte de los productores de participar en el estudio y/o donar semilla.

En el caso de Michoacán, como ya se mencionó, el periodo de muestreo fue en parte anterior a la ejecución del proyecto (ciclo 2016), debido a que la Dra. Patricia Delgado, quien encabezó al equipo de colecta en este estado, comenzó en 2017 una colecta con el fin de evaluar la posible presencia de secuencias transgénicas en acervos de maíz nativo de Michoacán. La Dra. Delgado amablemente compartió parte de la semilla colectada, así como los datos de georreferenciación, los cuales mostraron correspondencia con zonas del estado que habían sido consideradas en el diseño de esquema de muestreo propuesto para el estudio, de modo que fueron incorporadas al mismo junto con otra fracción colectada durante 2018.

En el caso de Veracruz, hubo un esfuerzo de colecta menor al proyectado en el diseño original debido a dos fenómenos: la imposibilidad de garantizar la seguridad de los colectores para entrar en varias zonas del estado y los fenómenos meteorológicos acontecidos durante parte del mes de octubre que inhabilitaron varias de las vías de acceso a varias localidades del centro y norte del estado. Otra situación que es necesario mencionar es que los colectores tuvieron problemas con el equipo de geolocalización, por lo que no es posible presentar un mapa con el muestreo en campo.

En las figuras 6-9 se muestran las diferencias espaciales entre la propuesta original y las localidades que finalmente pudieron ser muestreadas en campo para Chiapas, Ciudad de México, Michoacán y Oaxaca. En estas figuras los puntos grises representan las localidades propuestas por el muestreo, mientras que los puntos verdes son los puntos en los que se llevó a cabo el muestreo. Para el caso de la Ciudad de México tenemos registrados 20 puntos geográficos equivalentes a los poblados en los que se contactaron a las familias que participaron en el estudio, en cada poblado hay más de una localidad, de modo que se excede el número de localidades proyectadas en el modelo de muestreo, tal como se muestra en la sección de análisis de las entrevistas.

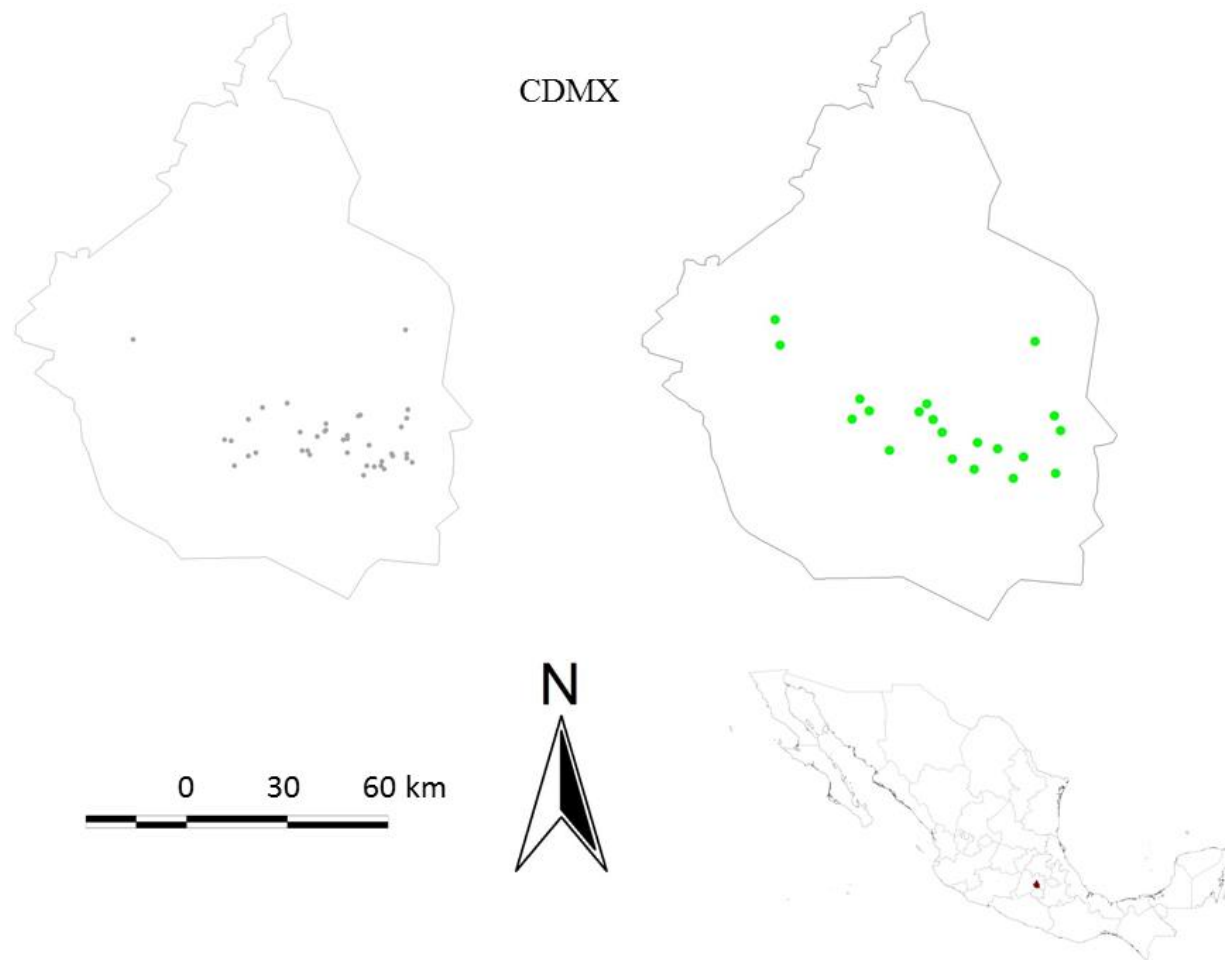


Figura 6. Localidades del muestreo aleatorio (gris) y localidades muestreadas en campo (verde) en la Ciudad de México

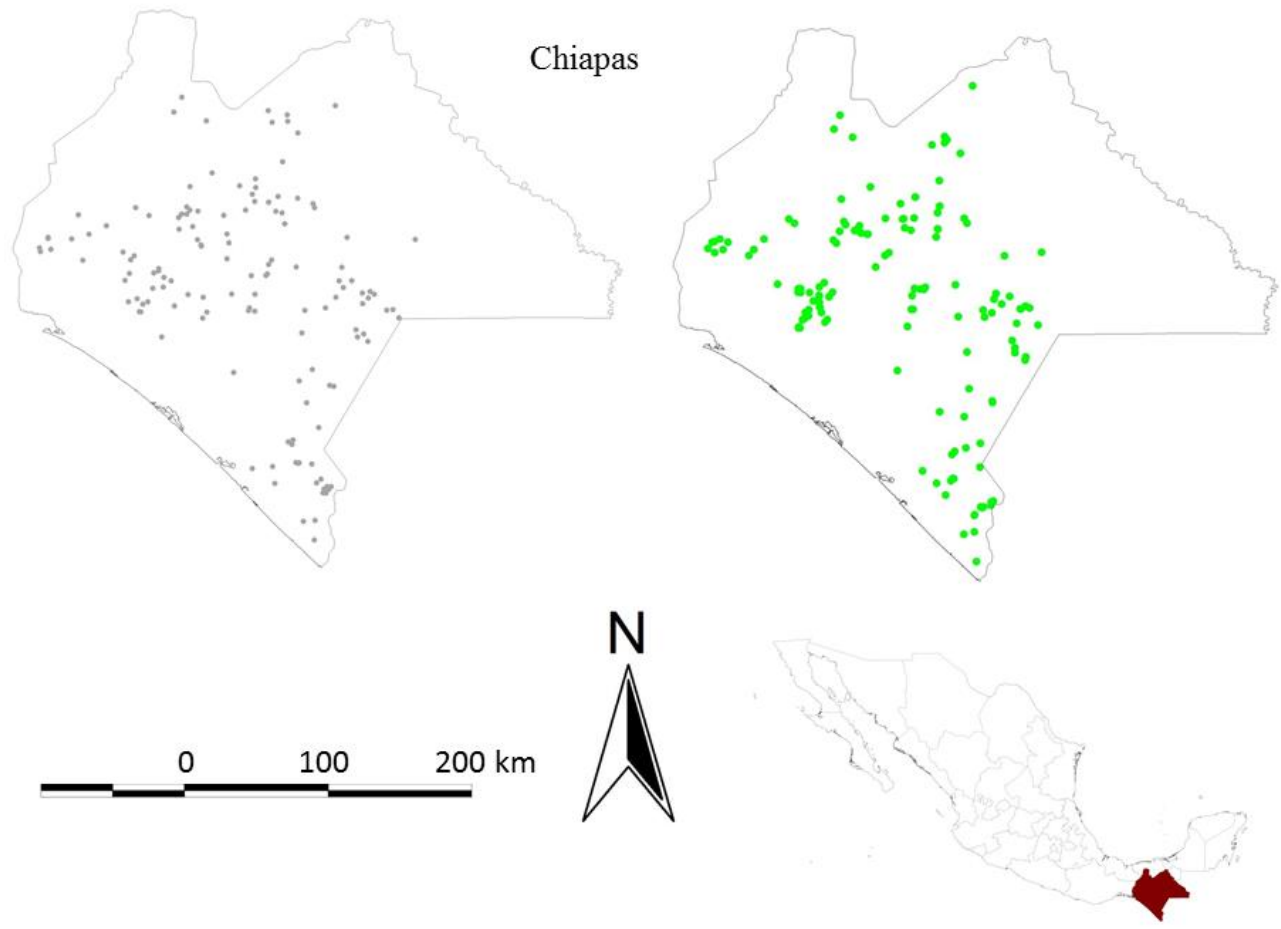


Figura 7. Localidades del muestreo aleatorio (gris) y localidades muestreadas (verde) en campo en Chiapas

Michoacán

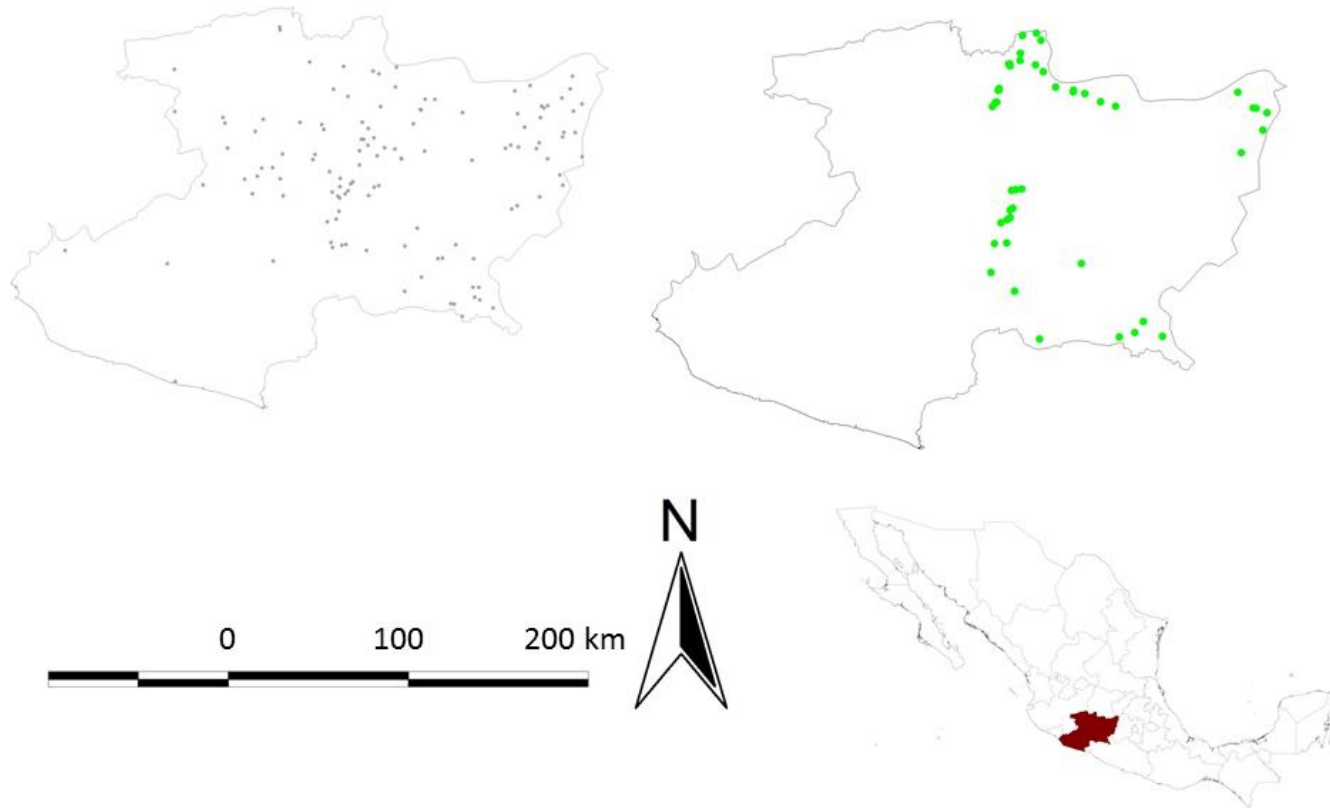


Figura 8. Localidades del muestreo aleatorio (gris) y localidades muestreadas en campo (verde) en Michoacán

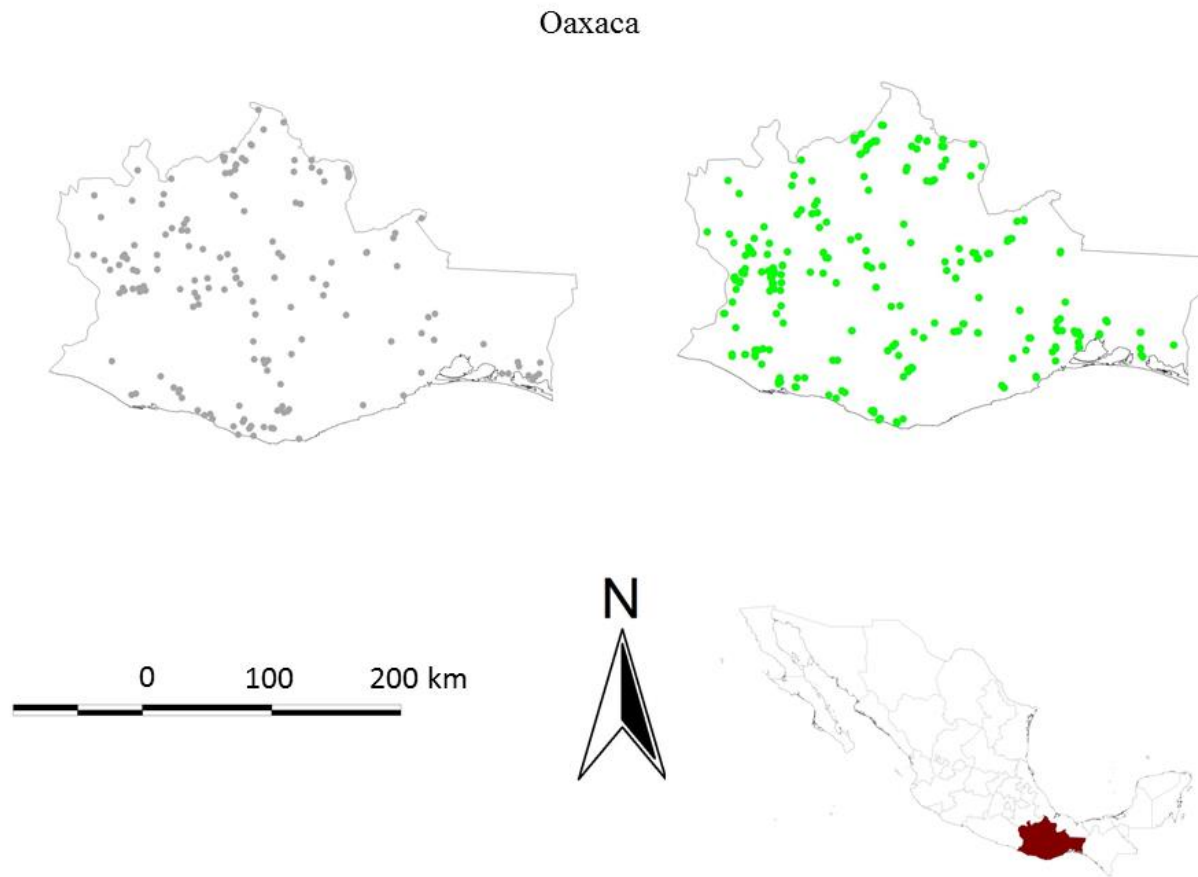


Figura 9. Localidades del muestreo aleatorio (gris) y localidades muestreadas en campo (verde) en Oaxaca

4.2 Aplicación de la encuesta a los agricultores que donaron las semillas colectadas

El acercamiento a los agricultores se hizo en algunos casos con la ayuda de las autoridades locales y en otros de manera personal. En todos los casos se daba una breve explicación de los propósitos del proyecto y se informaba acerca de los alcances del mismo con la apertura de resolver cualquier duda que tuvieran los agricultores, posteriormente se les invitaba a participar contestando una encuesta y a donar de manera voluntaria muestras de maíz para que fueran analizadas.

Con el fin de obtener los datos agronómicos de manejo de las semillas de manera más eficiente, se optó por fusionar en un solo formato (Anexo 4 en CD) la ficha de colecta y la encuesta. La fusión estuvo orientada a lograr obtener los datos indispensables para el estudio con un tiempo mínimo de aplicación, de modo que fuera posible aumentar el número de entrevistados por día y en la medida de lo posible también el número de localidades por día.

La información de las encuestas fue capturada en matrices de datos (Anexo 1 en CD). Posteriormente la información de las matrices fue sistematizada con la ayuda de scripts hechos con la aplicación web Jupyter Notebook versión 5.5.0, utilizando el lenguaje de programación Python versión 3.6.5 de Anaconda, Inc; mientras que los gráficos fueron diseñados utilizando la interfaz web Plotly©.

4.3 Variedades de maíz muestreadas y sistematización y análisis de las encuestas/hojas de colecta

4.3.1 Chiapas

En este estado se visitaron 127 localidades en las que se entrevistó a un total de 386 agricultores de entre 27 y 89 años de edad, quienes donaron un total de 472 muestras de maíz. Destaca que la edad promedio es de 51.2 años y que el 42% de los entrevistados tienen 50 años o más. El 9% de los participantes del estudio se declararon como hablantes de algún idioma indígena (27 el tzotzil, 3 el tzeltal y 5 el mochó). El tipo de tenencia de la tierra de la mayoría de los agricultores es ejidal o privada y una pequeña fracción siembra en tierras comunales (Figura 10).

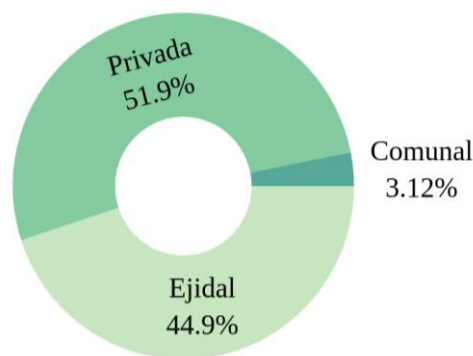


Figura 10. Tenencia de la tierra

En cuanto a las variedades de maíz de las 472 muestras donadas en este estado, el 77.6% fueron variedades nativas y el 22.3% fueron híbridos comerciales. La diferencia entre el número de muestras donadas y el número de agricultores entrevistados, responde al hecho de que los agricultores donaron el número de variedades que manejan y que tenían disponibles en ese momento para incorporarlas en este estudio: 83% donó sólo una variedad de maíz, 13% donó dos variedades y 4% donó 3 o más variedades. De las variedades donadas, 291 personas donaron sólo maíces nativos, 75 personas donaron sólo híbridos y 20 personas donaron tanto híbridos como nativos. Los nombres de las variedades nativas (Figura 11) y de las variedades de híbridos comerciales (Figura 12) mencionados por los agricultores se agruparon por categorías:

Variedades nativas:

- Amarillo: Amarillo, Amarillo Parraleño, Amarillo Higuera, Amarillo Grande, Amarillo Criollo, Amarillo Oro, Amarillo El Pacho, Amarillo Enano y Amarillo Alto.
- Negro: Negro, Morado y Negrito
- Jarocho: Jarocho, Jarocho Morado, Jarocho Blanco y Jarocho Jolochi Morado
- Tuxpeño: Tuxpeño y Tuxpeño Grande
- Rocamey: Rocamey Blanco y Rocamey Amarillo
- Olotillo: Olotillo Amarillo y Olotillo Blanco
- Breve: Breve Blanco y Breve Chapingo
- Rojo: Rojo y Colorado
- Otra: Jarrito, Tundra, Macho, Napalú, Precoz, Frayescano, Juchi, Quintana Roo, Opamel, Zacua, Grueso, Temporal, Comiteco, Granudo, Mejencito, Sangre de Cristo, Tardón, Canario, Colorado, Moro, Chimbo, Criollo 424

- Criollo: Variedad nativa no especificada

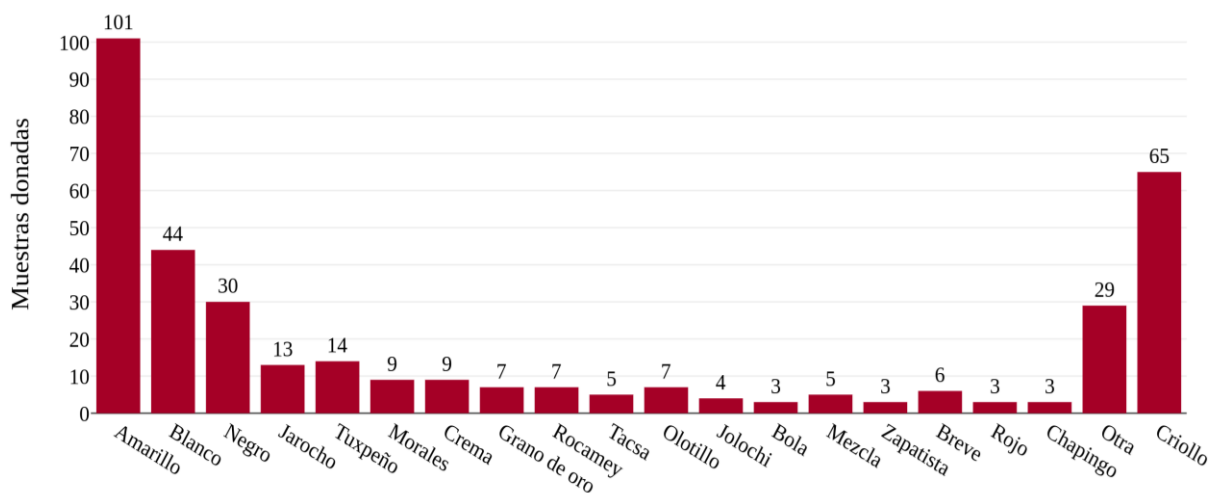


Figura 11. Variedades de maíz nativo

Variedades de híbridos comerciales:

- Pioneer: Pioneer 82, 86, 96, 482, 520, 536, 4026, 4066, 4082, 6639w, 3946, Pioneer Amarillo, Pioneer Blanco
- Dekalt: Dekalt blanco, Dekalt 390 y Dekalt Amarillo
- Otra: Tornado, 507, Cristiani, Zacro 536, Ceres, Z-30, American Seed, Bramdon, Dragón, H-507, Asgrow, Tr1, Rojo
- Híbrido: Variedad híbrida no especificada

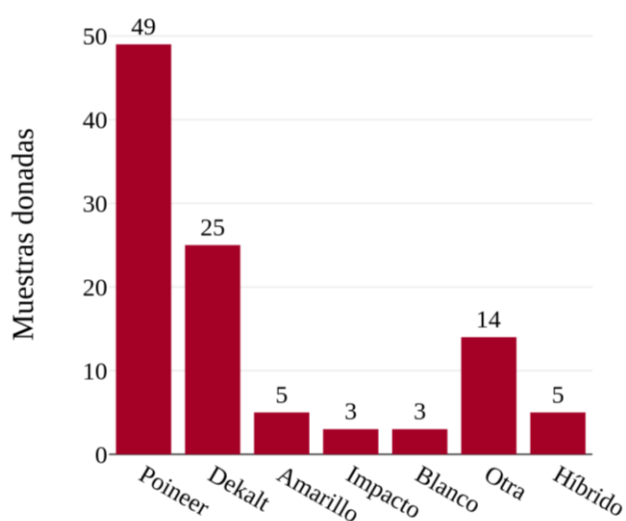


Figura 12. Variedades de maíz híbrido

Respecto a la superficie dedicada al maíz, los agricultores reportaron tener uno o más terrenos, el promedio de la superficie de siembra con la que cuentan los entrevistados es de 1.29 ha, mientras que la moda de la superficie dedicada al maíz nativo es 1 ha (113 terrenos) y la moda de la superficie dedicada al maíz híbrido es 2 ha (39 terrenos). El conjunto de agricultores entrevistados suma un total de 470 terrenos de los cuales el 99.3% son pequeña propiedad (<5 ha.), destaca que 60.6% de los terrenos tienen una superficie igual o menor a una hectárea. En cuanto a la variedad de maíz sembrada en los terrenos, detectamos que hay una mayor tendencia a sembrar maíces nativos (Tabla 3).

Tabla3. Superficie de siembra en relación con el tipo de maíz sembrado

	Terrenos <5ha	Terrenos ≤1ha
Nativos	364	245
Híbridos	103	40
Total	467	285

Los terrenos son manejados en su mayoría bajo un sistema de monocultivo (Figura 13a); con utilización de tractor, yunta de animales o ambos (Figura 13b). Existe un uso generalizado de fertilizantes químicos y herbicidas, es decir que el 100% de los entrevistados utilizan al menos un fertilizante químico y al menos un herbicida², mientras que el uso de insecticidas se presenta en el 67% de los casos; en 6 casos los agricultores reportaron el uso de estiércol o abono natural, pero siempre acompañado de algún fertilizante químico. La lista de fertilizantes químicos, herbicidas e insecticidas nombrados por los agricultores, fueron reclasificados por compuesto activo (COFEPRIS, 2018)³ se presenta en la Tabla 4.

² En algunos casos se emplean combinaciones de estos insumos

³ Anexo 5 en CD

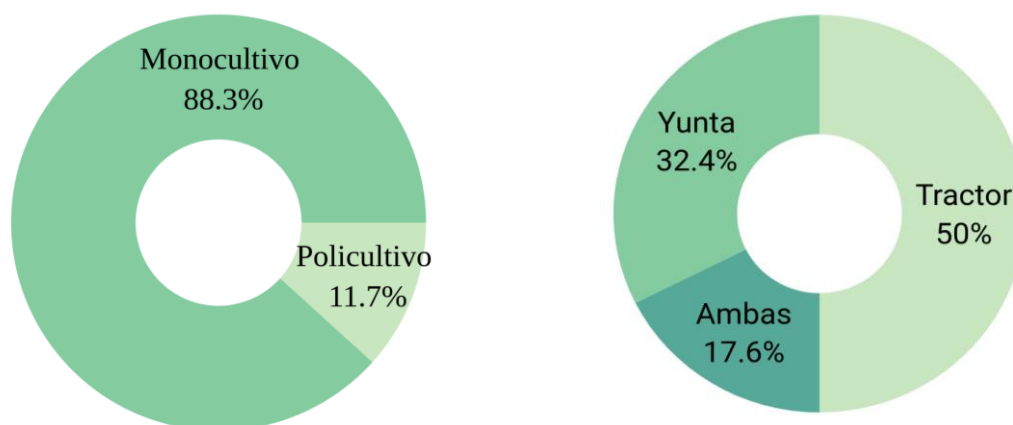


Figura 13a. Proporción de terrenos dedicados al monocultivo (415) y al policultivo (55)

13b. Nivel de tecnificación en los terrenos (De los terrenos mecanizados, 15 indicaron también usar rastra)

Tabla 4. Insumos aplicados en los terrenos de siembra

Insumos	Nombre y número de muestras en las que lo aplican*
Fertilizantes químicos	Urea (411), sulfato de amonio (60), DAP 18-46-00 (14), abono/estiércol (6), nitrato de amonio (3), otros: foliar, calcio, evergreen y sal con chile (5)
Herbicidas	Glifosato (396), paraquat (114), 2-4D (24), dicamba (1), otros (7)
Insecticidas	Lambda Cyalotrina (107), cipermetrina (75), maliatión (55), paratión metílico (51), deltametrina (44), thiodicarb (17), permetrina (8), otros: Tamaron, Socrom, Patron y polvo (16)

*Tal como se mencionó en la sección anterior, la matriz de datos de Chiapas está acomodada según las muestras donadas

En el tema de manejo de las semillas donadas, su origen fue clasificado según el lugar (Figura 14a) como locales (de la localidad/poblado) o foráneas (de otro poblado, otro municipio u otro estado); y según la forma de obtención (Figura 14b) como herencia (de padres o abuelos), compra o intercambio. Los años de manejo de las semillas van de 1 (primer ciclo de siembra) a más de 20, distribuyéndose con la frecuencia presentada en la Figura 15, con un promedio de 9.9 años. El destino de las semillas cosechadas es uso familiar como alimento, forraje o ambos (Figura 16a) o la venta/donación/intercambio (Figura 16b). Los alimentos preparados con el maíz, mencionados por los entrevistados fueron: aguas frescas, pozol y tortillas. Finalmente el almacenaje de las semillas en la mayoría de los casos (sólo 13 personas mencionaron que no guardan la semillas, la adquieren cada año) ocurre en la casa/habitación y los contenedores mencionados se presentan en la Tabla 5.

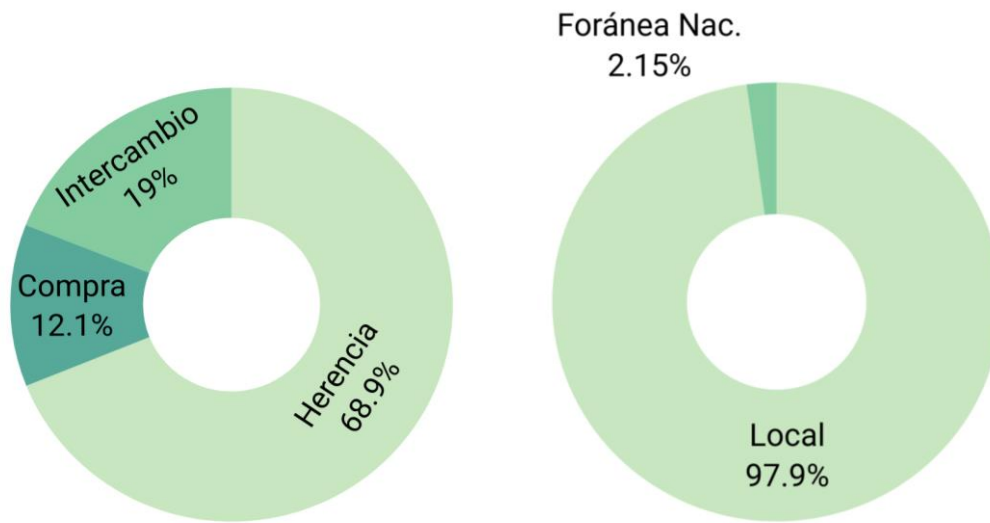


Figura 14a. Origen de la semillas. Desconocido (9) no incluido en el gráfico
14b. Forma de obtención de las semillas. Desconocidos (53) no incluido en el gráfico

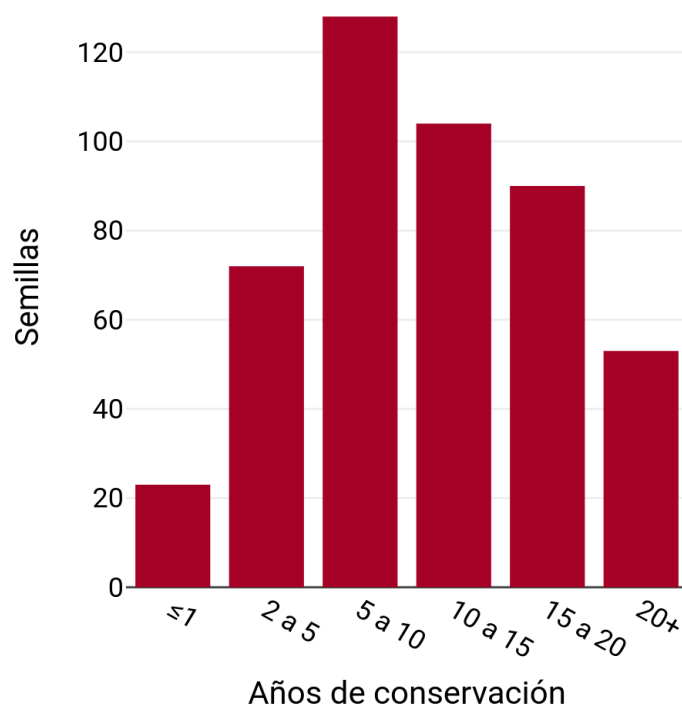


Figura 15. Distribución de frecuencia de los años de conservación de la semillas

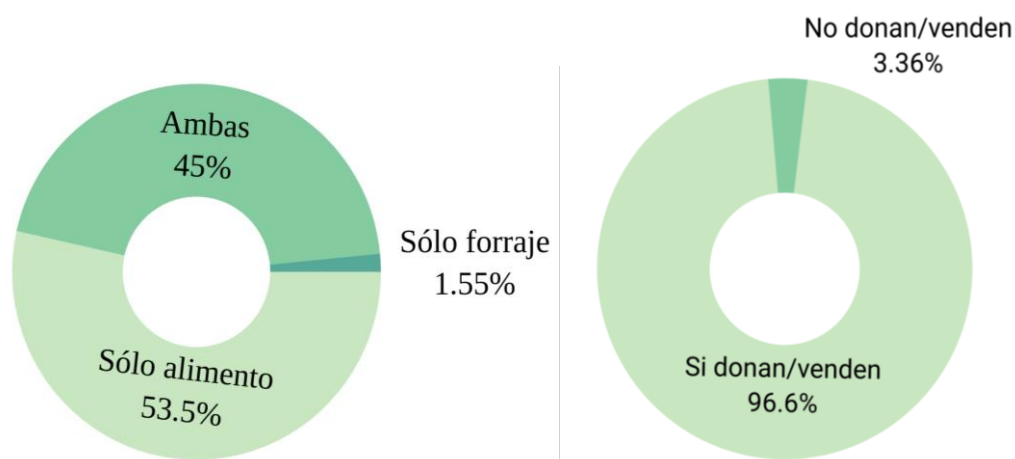


Figura 16. Destino de las semillas cosechadas **a.** Uso familiar de las semillas cosechadas **b.** Venta/donación

Tabla 5. Contenedores empleados para el almacenaje de las semillas

Tipo de contenedor	Productores(as)
Bolsa de fertilizante	323
Contenedor de plástico	39
Costales	2
Contenedor de metal	3
Otro (bolsas pequeñas y Rotoplas)	8

4.3.2 Ciudad de México

En este estado se visitaron 20 poblados en los que se entrevistó a un total de 155 agricultores, rebasando el número de localidades geoestadísticas INEGI (2010) proyectadas en el diseño original. Las edades de los entrevistados variaron desde los 22 hasta los 90 años de edad, con una edad promedio de 56.6 años, es importante destacar que el 70.3% de los participantes del estudio tiene arriba de 50 años. Trece personas se declararon como nahuablantes (idioma náhuatl o mexicano) y una persona habla el idioma hñähñú (otomí). El total de muestras de maíz colectadas fue de 268. El tipo de tenencia de la tierra es mayoritariamente comunal, mientras que la propiedad privada y la ejidal se encuentran en una proporción cercana (Figura 17).

Tipo de Propiedad

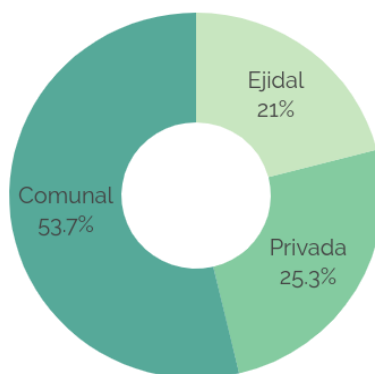


Figura 17. Tenencia de la tierra

En cuanto a las variedades de maíz de las 268 muestras donadas en este estado, sólo 5 fueron de híbridos comerciales donadas por 5 agricultores distintos, el resto fueron maíces nativos. Un total de 82 productores donaron una variedad, 42 donaron dos variedades cada uno y el resto donó de 3 a 5 variedades. Los nombres de las variedades de maíz (Figura 18) mencionados por los agricultores se agruparon por categorías:

- Blanco (incluyendo Blanco de la Revolución): 89
- Azul (incluyendo Morado, Negro, Azul de olote blanco o rojo y Azul pinto): 88
- Rojo (incluyendo Pinto): 44
- Cacahuacintle: 23
- Amarillo: 16
- Palomero: 3
- Híbrido: 5

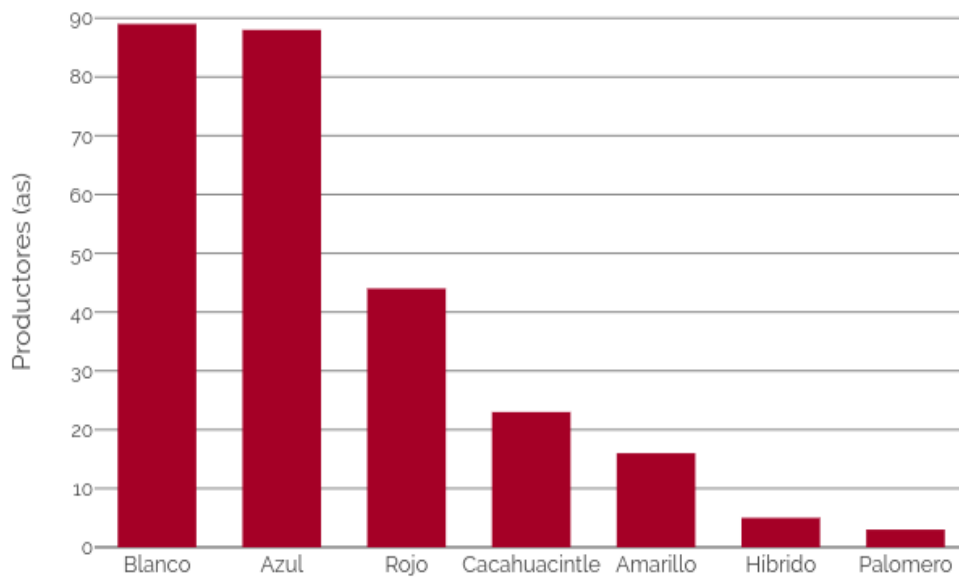


Figura 18. Variedades de maíz donadas

En cuanto a la superficie de tierra dedicada al maíz, el promedio de la superficie de siembra con la que cuentan los entrevistados es de 2.2 ha, el 54% de los agricultores posee menos de una ha y el 92% son considerados pequeños productores (poseen ≤ 5 ha). El 76.8% de los agricultores practica el policultivo, hacen milpa, el resto siembra el maíz en monocultivo (Figura 19a); en estos terrenos el nivel de tecnificación va desde el manejo totalmente a mano o bien empleando la yunta, el tractor o ambos (Figura 19b). En este estado se registró un relativamente bajo uso de insumos agrícolas que se ven reflejados en la Figura 20 y la Tabla 6. La lista de fertilizantes químicos, herbicidas e insecticidas nombrados por los agricultores (Tabla 7) fueron reclasificados por compuesto activo/nombre comercial de acuerdo con el listado de COFEPRIS (2018).

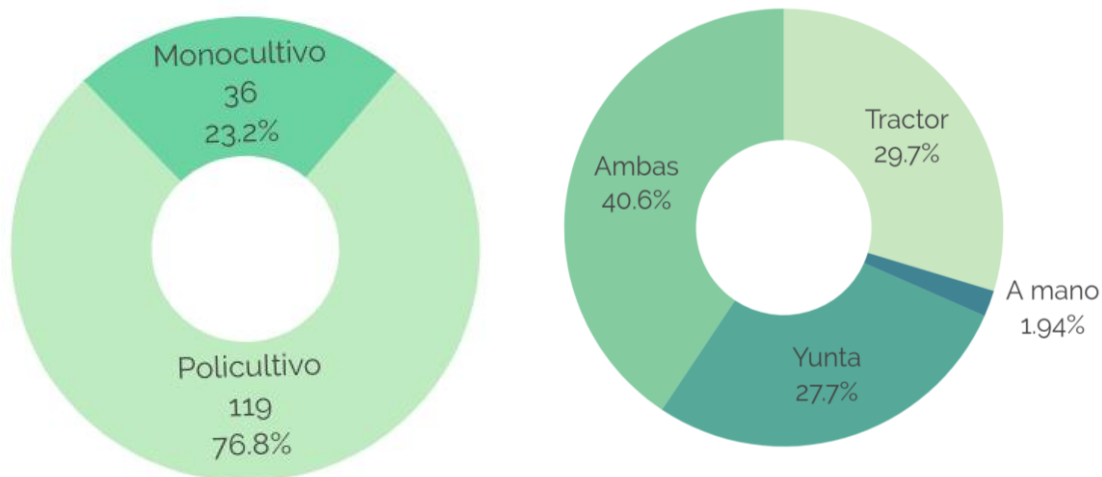


Figura 19a. Proporción de terrenos dedicados al monocultivo (415) y al policultivo (55)
19b. Nivel de tecnificación en los terrenos (De los terrenos mecanizados, 15 indicaron también usar rastra)

Tabla 6. Uso anterior y actual de insumos agrícolas

Insumo	Sí (usa actualmente)	Usó antes	No usa
Fertilizante	46 (30%)	7 (4.5%)	102 (65%)
Herbicida	19 (12%)	2 (1.3%)	134 (86%)
Insecticida	7 (4.5%)	0	148 (95.5%)

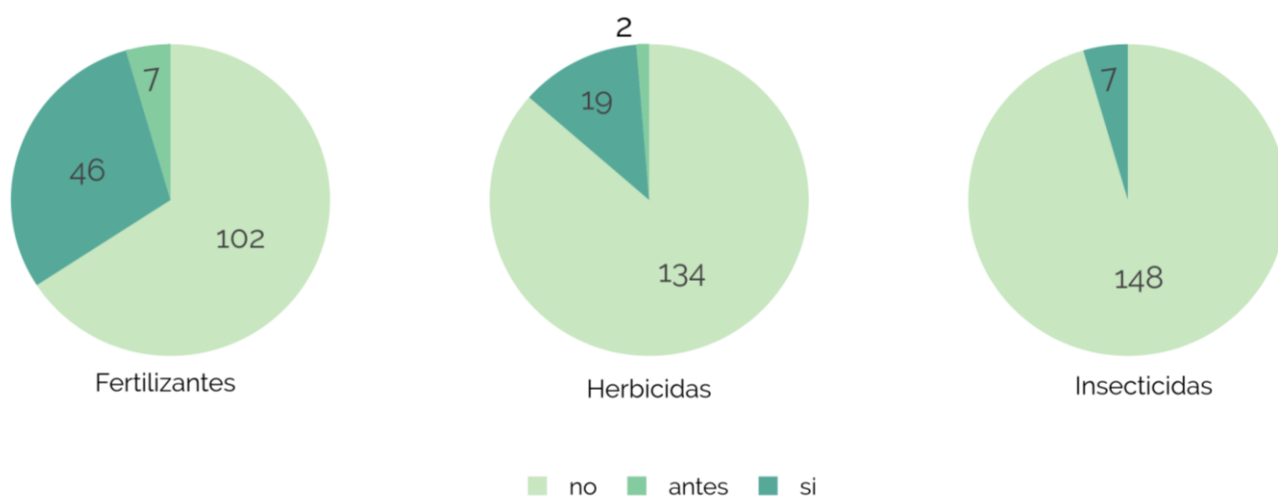


Figura 20. Proporción de agricultores que emplean insumos agrícolas

Tabla 7. Insumos aplicados en los terrenos de siembra

Insumos	Nombre y número de personas que los aplican
Fertilizantes químicos	Urea (28), triple 17 (9), sulfato de amonio (9), fórmula maicera (8), DAP (2), Yara UNIK 16 (2), otro: fórmula cañera, foliares, fórmula 20-10-10 (6), desconocen el nombre (3)
Herbicidas	Hierbamina (6), faena (4), titan (1), marvel (1), sulfonilurea (1), dicamba (1), desconocido o le llamaron matapasto o matahierba (9)
Insecticidas	Pastilla de sulfuro para gorgojo (2), combate 20 (2), foley (1), desconocido (2)

El origen de las semillas fue clasificado según la forma de obtención (Figura 21a) como herencia (de padres o abuelos), compra o intercambio; y según el lugar (Figura 21b) como locales (de la localidad/poblado) o foráneas (de otro poblado, otro municipio u otro estado); los lugares de origen mencionados y que fueron clasificados como foráneos son: Amecameca, San Salvador Cuauhtco, Chalco, Texcoco, Nayarit, Juchitepec, Michoacán, Oaxaca, Ozumba, Puebla, San Felipe del Progreso, Santa Ana Tlacotalpan, Santa Ana Tlacotco Santiago Tianguistco, Tesompa, Toluca, Guanajuato, Morelos, Villa de Milpa Alta. Los años de manejo/conservación de las semillas van de 1 (primer ciclo de siembra) a más de 50, distribuyéndose con la frecuencia presentada en la Figura 22.

Las semillas se destinan para un uso alimenticio, como forraje o ambos (Figura 23a) o bien para la venta/donación/intercambio (Figura 23b). Los alimentos preparados con estos maíces son: tortillas, atole, elotes, pinole, tamales, totopos⁴, masa, quesadillas, bebidas frescas, hervidos, sopes. El lugar de almacenaje de las semillas fue mencionada por 71 agricultores: en la casa (62 personas), en una bodega (3), en el predio agrícola (4), en la granja animal (1) y en el rancho (1); el tipo de contenedores varía dependiendo de si el maíz se guarda en mazorca (tambos de plástico, sincolotes, malla de gallinero, costales de rafia, contenedor de madera, contenedor metálico, costales de palma o henequen, tambo de cartón, piso al aire libre, petlacoshtal) o en semilla (bolsas de papel, costales, congelador, chiquihuites, cubetas de plástico, bolsas de plástico).

⁴ Son tortillas cortadas en trozos y fritas en aceite o tostadas. Es necesario distinguir estos de los totopos de Oaxaca que se mencionan más adelante.

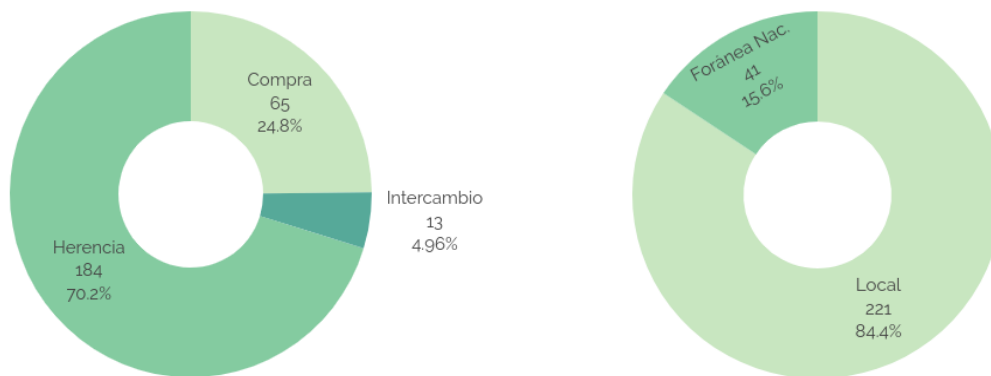


Figura 21. Origen de la semillas **a.** Forma de adquisición
b. Lugar de adquisición

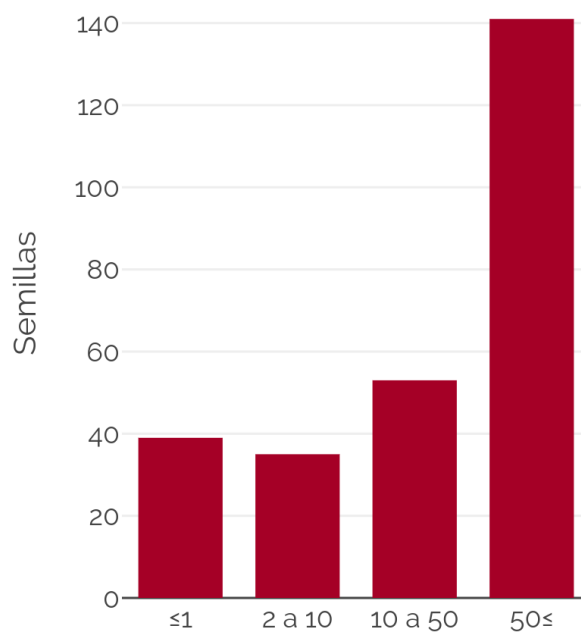


Figura 22. Años de conservación de las semillas

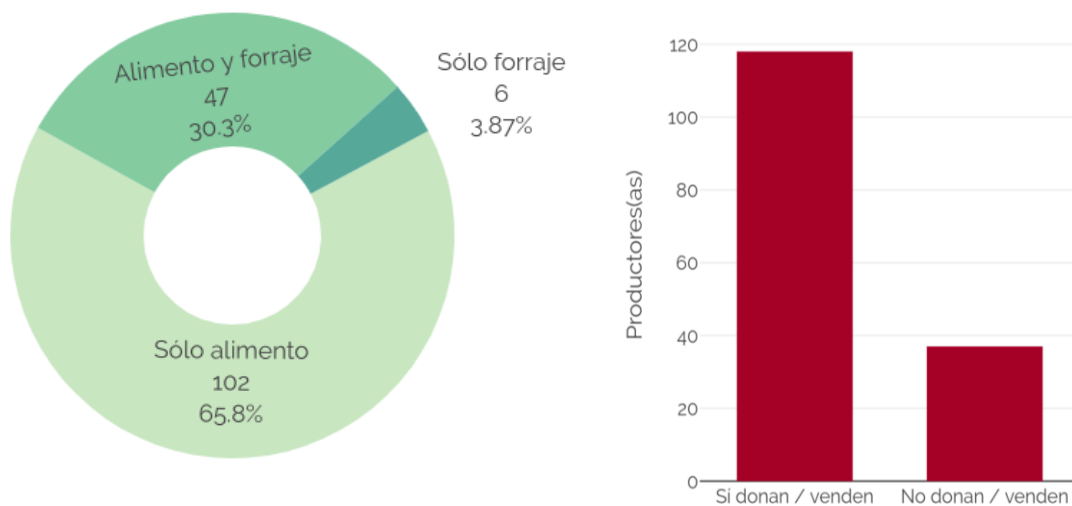


Figura 23. Destino de las semillas cosechadas **a.** Uso familiar de las semillas cosechadas **b.** Venta/donación

4.3.3 Michoacán

Como ya se mencionó antes, el número de muestras de maíz analizadas difiere respecto al número de encuestas aplicadas, debido a que se aprovecharon colectas previas efectuadas. El equipo de la Dra. Delgado ya había comenzado de manera previa a este estudio, esfuerzos de colecta para fines de evaluar la posible presencia de secuencias transgénicas en acervos de maíz nativo de su estado. La Dra. Delgado amablemente compartió parte de la semilla colectada, así como los datos de georreferenciación. Se decidió incorporar estas muestras puesto que corresponden a zonas de Michoacán contempladas en el esquema de muestreo elaborado para este estudio, donde en algunas regiones hay dos ciclos agrícolas al año y las muestras compartidas por la Dra. Delgado representan el ciclo que madura en noviembre-diciembre (cosecha 2017), el cual no se hubiera podido colectar en el contexto de esta investigación durante 2018. En esta sección presentamos la sistematización y análisis de las encuestas aplicadas en la colecta realizada en el periodo que abarcó el presente estudio, cuyo número es marginalmente representativo.

Las entrevistas fueron aplicadas en 50 localidades. El número de personas entrevistadas es de 78, quienes donaron un total de 104 muestras. La edad promedio de los agricultores es 56.6 años, mientras que el 77% tienen arriba de 50 años de edad. Veintidós personas entrevistadas hablan la lengua purépecha (tarasco). El tipo de

tenencia de la tierra en la mayoría de los casos es privada, poco más del 15% es comunal y ejidal (Figura 24).

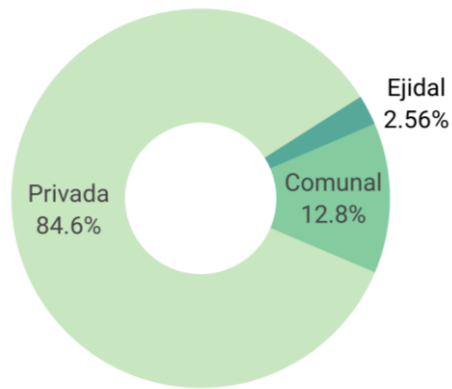


Figura 24.Tenencia de la tierra

De estas 104 muestras, el 74% fueron variedades nativas y el resto fueron híbridos comerciales. De las variedades donadas, 53 personas donaron sólo maíces nativos, 23 personas donaron sólo híbridos y 2 personas donaron tanto híbridos como nativos. Tanto las variedades nativas (Figura 25) como las híbridas (Figura 26) fueron clasificadas por colores, de éstas últimas algunos de los nombres comerciales mencionados por los entrevistados fueron: Asgro-Pavorreal, Asgrow antílope, H443A, H318, Bajío, Asgrow-Decal-Pioneer, Decal 20-34, H75, Pioneer p3057w, 85p36, Pozolero, H507, Tamaulipas, Barriga.

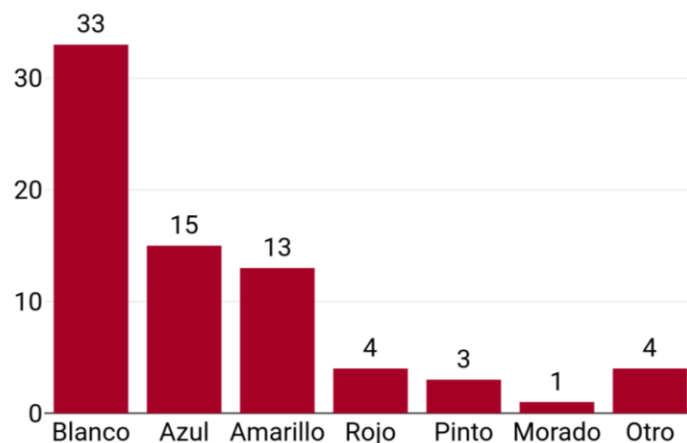


Figura 25. Variedades de maíz nativo

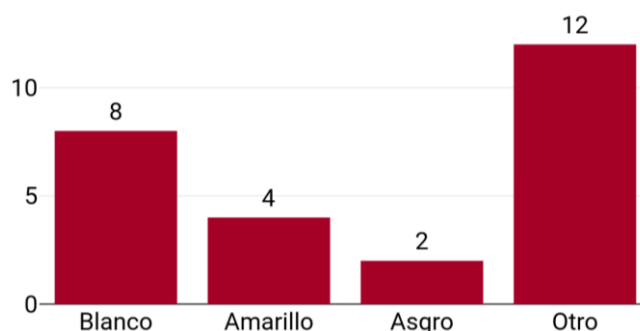


Figura 26. Variedades de maíz híbrido

El promedio de la superficie de los terrenos pertenecientes a los entrevistados es de 9.29 ha; la moda de la superficie dedicada al maíz nativo es 1 ha (29 terrenos) y la moda de la superficie dedicada al maíz híbrido es 2 ha (8 terrenos). El 70% de los agricultores poseen pequeña propiedad (<5 ha.), el 38.5% de los terrenos tienen una superficie igual o menor a una hectárea. En cuanto a la variedad de maíz sembrada en los terrenos, existe una mayor cantidad de terrenos en los que se siembran maíces nativos (Tabla 8).

Tabla 8. Superficie de siembra en relación con el tipo de maíz sembrado

	Personas con <5ha	Personas con ≤1ha
Nativos	57	34
Híbridos	16	6
Total	73	40

Las tierras son manejadas principalmente bajo sistemas de policultivo (Figura 27a); con una fuerte inclinación (50% de los casos) al manejo manual (sin tractor o yunta) (Figura 27b). En cuanto a la aplicación de insumos agrícolas, encontramos que 35 personas utilizan algún fertilizante químico, 13 usan herbicidas y 5 emplean insecticidas. La lista de fertilizantes químicos, herbicidas e insecticidas nombrados por los agricultores, fueron reclasificados por compuesto activo/nombre (COFEPRIS 2018), se presentan en la Tabla 9.

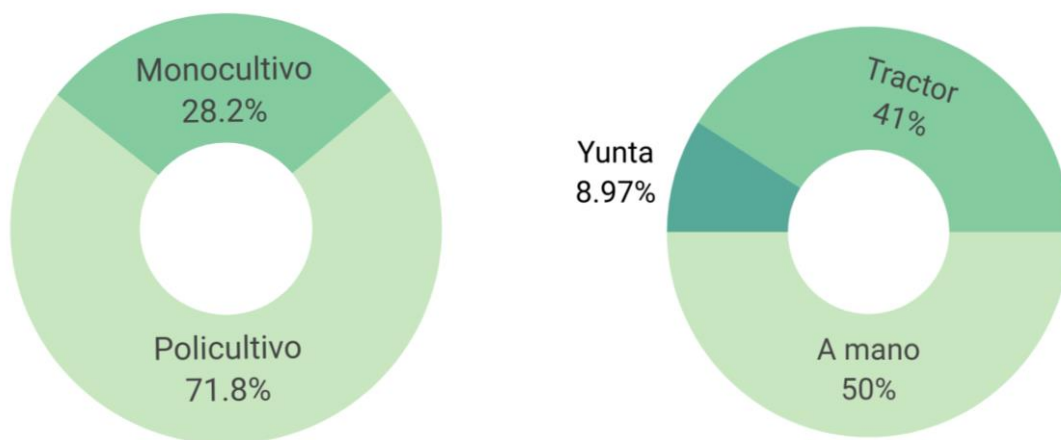


Figura 27a. Proporción de terrenos dedicados al monocultivo y al policultivo

27b. Nivel de tecnificación en los terrenos

Tabla 9. Insumos aplicados en los terrenos de siembra

Insumos	Nombre y número de personas que lo aplican
Fertilizantes químicos	Urea (22), sulfato de amonio (11), DAP (7), Otros: POM2, Pollinaza, Nutriesgrom, Petrocuat, Pronamex (5)
Herbicidas	Paraquat (7), glifosato (3), picloram (3), 2-4D (2), otros: Deshierbal, Finale, Guadaña, Convey (4)
Insecticidas	Cipermetrina (2), dimetoato (1), corajen (1), lorbam (1), lannate (1)

Acerca del manejo de sus semillas, los entrevistados mencionaron el origen del grano (Figura 28), que fue clasificado como autoabastecimiento (que significa que lo siembran año con año) o adquisición: ya sea familiar, en una casa comercial, con vecinos de la misma comunidad u otro (Inifap de Tamaulipas y Tepatitlán Guerrero, Nurio Michoacán, Pátzcuaro, Semillera en Coalcoman). Respecto a la donación o venta de semilla, sólo el 15% de los agricultores reportaron estas prácticas con familiares, vecinos de la comunidad o con personas de las comunidades aledañas. Por último, los participantes detallaron que guardan su semillas en bodegas (37), tapancos (17), en un cuarto de la casa (6), en una troje (1), en un granero (1), en botes (1); 15 personas no guardan las semillas.

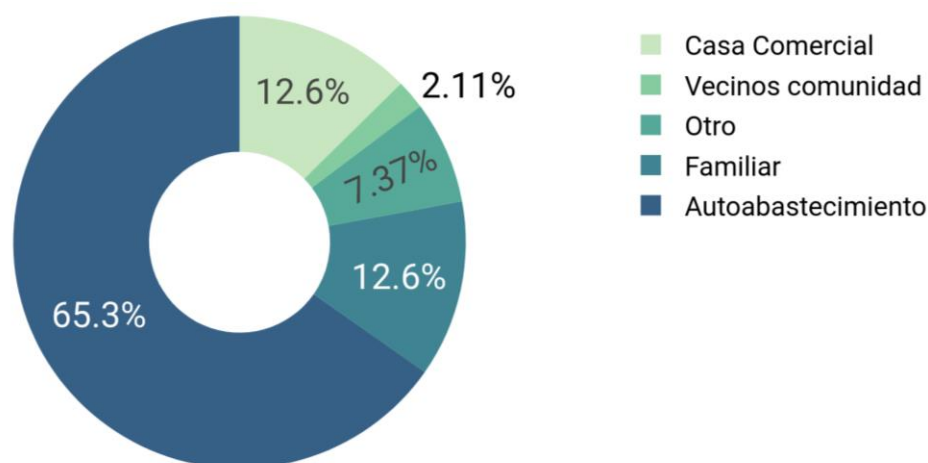


Figura 28. Origen de las semillas

4.3.4 Oaxaca

En la etapa de colecta en campo se recorrieron 146 localidades, en las que los agricultores amablemente donaron un total de 713 muestras de maíces. Los entrevistados fueron 501 personas en un rango de edad entre 17 y 87 años. La edad promedio de los participantes es de 56.2 años, el 65% tiene 50 años o más. Este fue el estado en el que hubo una mayor cantidad de personas (55%) que reportaron que practican una lengua indígena (Tabla 10). A partir del análisis de los datos contenidos en la matriz de captura de las encuestas, se observa que el tipo de tenencia de la tierra predominante es la propiedad comunal, seguida por la privada, además de una categoría adicional llamada otros en la que se agruparon respuestas como propiedad federal y en estatus de renta; cabe mencionar que en 82 muestras no se reporta el tipo de propiedad (Figura 29).

Tabla 10. Relación de idiomas que hablan los participantes del estudio

Personas	Lengua*
80	Tu'un savi (lenguas mixtecas)
74	Lenguas zapotecas (exónimo de un conjunto de idiomas)
33	Lenguas mazatecas (exónimo de un conjunto de idiomas)
30	Ayuukjä'äy (mixe)
19	Lenguas chinantecas (exónimo de un conjunto de idiomas)
13	Lenguas triquis (exónimo de un conjunto de idiomas)
8	Nahuatl (mexicano)
6	Lenguas cuicatecas (exónimo de un conjunto de idiomas)
5	Chat'ña (chatino)
5	Idioma de los Slijuala xanuc' (Chontal)
3	Ñomdaa (Amuzgo)
3	Mixteco Alto (exónimo que refiere alguna variante del Tu'un savi)

*Renombrada procurando referir al autoglotónimo o bien mencionar si se trata de un exónimo

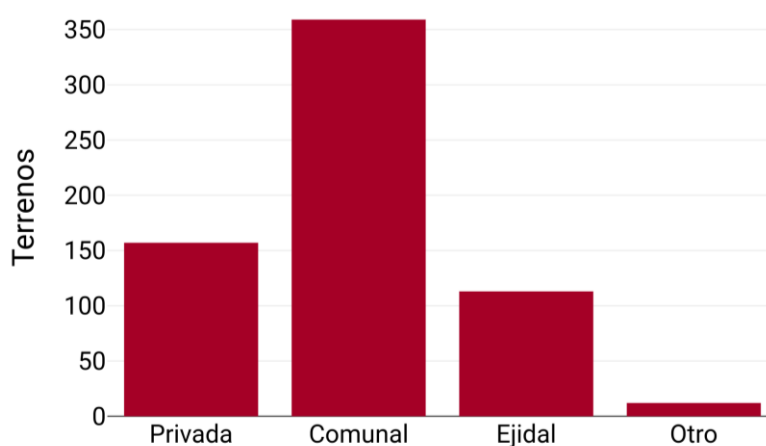


Figura 29. Tipo de tenencia de la tierra

De las 713 muestras donadas, 91.1% fueron variedades nativas y el resto variedades híbridas. El 75% de los agricultores donó una variedad de semilla, el 14.8% donó dos variedades y el 10.8% donó 3 o más variedades. De las variedades donadas, 436 personas donaron sólo maíces nativos, 42 personas donaron sólo

híbridos y 20 personas donaron tanto híbridos como nativos⁵. Los nombres de las variedades nativas (Figura 30) y de las variedades de híbridos comerciales (Figura 31) mencionados por los agricultores se agruparon por categorías:

Variedades nativas:

- Blanco: Blanco (3 o 5 meses), Blanco (abril o marzo), Blanco Cajete, Blanco Cerro, Blanco Chico, Blanco criollo, Blanco de temporal, Blanco Enano, Blanco Grano Delgado o Grano Grueso, Blanco Mazateco, Blanco Mixteco, Blanco Nuni Kuixi, Blanco Picado, Blanco Semilla Ligera, Blanco Tardío, Blanco Tuxpeño, Blanco Veracruzano, Blanco Olote delgado, Blanco Costeño, Blanco Tehuacanero
- Amarillo: Amarillo (5 meses), Amarillo Cerro, Amarillo Ligero, Amarillo Zona Alata, Amarillo Chico, Amarillo Semilla Chica.
- Azul: Azul.
- Zapalote: Zapalote Chico Blanco, Zapalote Chico Blanco de Chahuite, Zapalote Amarillo, Zapalote Blanco, Zapalote de 2 meses, Zapalote Morado, Zapalotito
- Pinto: Pinto
- Rojo: Rojo
- Morado: Totomoxtle Morado, Morado con Negro, Negrito, Violeta.
- Olotillo: Olotillo Amarillo, Olotillo Blanco, Olotillo Morado, Olotillo Rojo.
- Chiquito: Chiquito, Chiquito Blanco
- Tablita: Tablita, Tablilla Blanco, Tablita Blanco
- Rocamey.: Rocamey
- Chaparro: Chaparro
- Otras variedades: Café, Chaparro, Colipeño, Colorado, Condensado, Conejo Azul y Conejo Blanco, Revuelto, Crema, Crema Blanco, Chiapenco, Cuarenteño, Maíz de la loma, Maíz Grande, Grande Blanco, Naranja, Naranjeño, Revuelto, Tablita con Rocamey, Tapano Blanco, Tapano Grande, Tapanita Blanco, Olote Delgado Copileño.

⁵ En el registro de los datos hubo tres personas que no especificaron el tipo de maíz

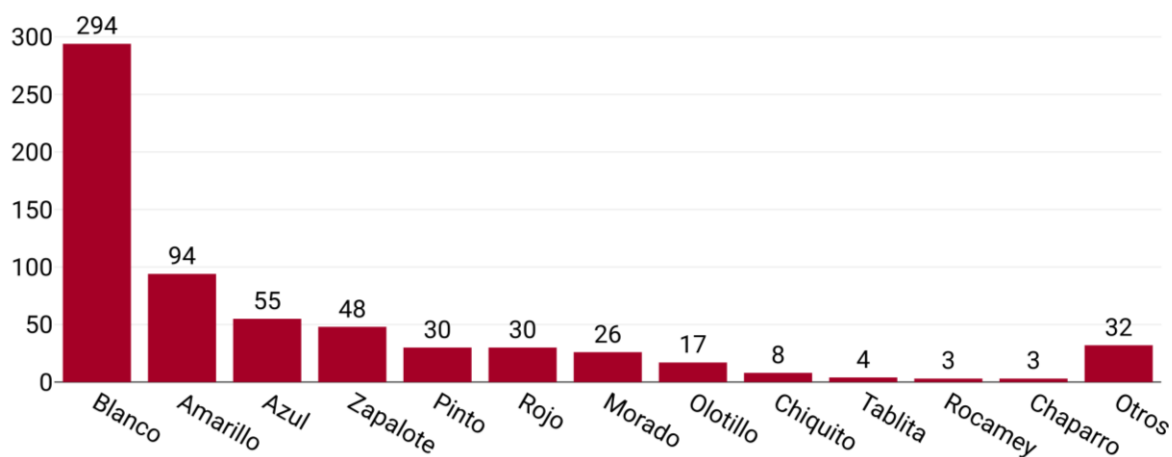


Figura 30. Variedades de maíz nativo

Variedades de híbridos comerciales:

- Blanco: Blanco, Blanco Color, Blanco Grande, Blanco Híbrido, Blanco Mejorado, Veracruzano Blanco.
- Dekall: Híbrido Dekall, Dekall 532 Blanco
- Amarillo: Amarillo, Mejorado Amarillo, Impacto Amarillo
- Call: Call 390 Blanco, Call Blanco, Blanco Call 390/s
- Otras: 583 Pryones, Biogey Híbrido, Grande Híbrido, 501 1, a7573 Asgrow, Híbrido h5-23, Impacto Amarillo, Proasa Semilla Bola, Híbrido Río Amarillo, Variedad 536, Mejorado. Pintado, Tablita con Híbrido, Terra mejorado.

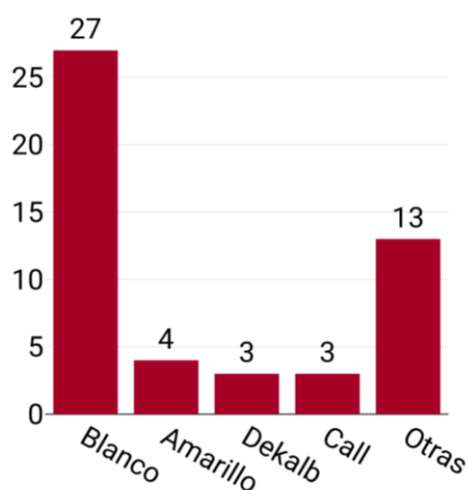


Figura 31. Variedades de maíz híbrido

El promedio de la superficie de siembra con la que cuentan los entrevistados es de 1.6 ha, mientras que la moda de la superficie dedicada tanto al maíz nativo (162 terrenos) como al híbrido coincide con 1 ha (24 terrenos). El conjunto de agricultores entrevistados suma un total de 640 terrenos de los cuales el 95.4% son pequeña propiedad (<5 ha.), y 61% de los terrenos tienen una superficie igual o menor a una hectárea. En cuanto a la variedad de maíz sembrada en los terrenos encontramos los datos presentados en la Tabla 11.

Tabla 11. Superficie de siembra en relación con el tipo de maíz sembrado

	Terrenos <5ha	Terrenos ≤1ha
Nativos	555	357
Híbridos	56	34
Total	611	391

Los terrenos son manejados en su mayoría bajo un sistema de policultivo (Figura 32a); con un nivel de uso de maquinaria que va de nulo (a mano) hasta el uso del tractor (Figura 32b). Hay uso de al menos un fertilizante químico y al menos un herbicida en cerca de la mitad de los casos (62.8% y 39.1% respectivamente) y al menos un insecticida en una proporción más baja (23.5%); en 7 casos los agricultores reportaron el uso de abono o fertilizante orgánico acompañado de algún fertilizante químico. La lista de fertilizantes químicos, herbicidas e insecticidas nombrados por los agricultores, en su mayoría fueron reclasificados por compuesto activo/nombre según la lista COFEPRIS (2018), se presenta en la Tabla 12.

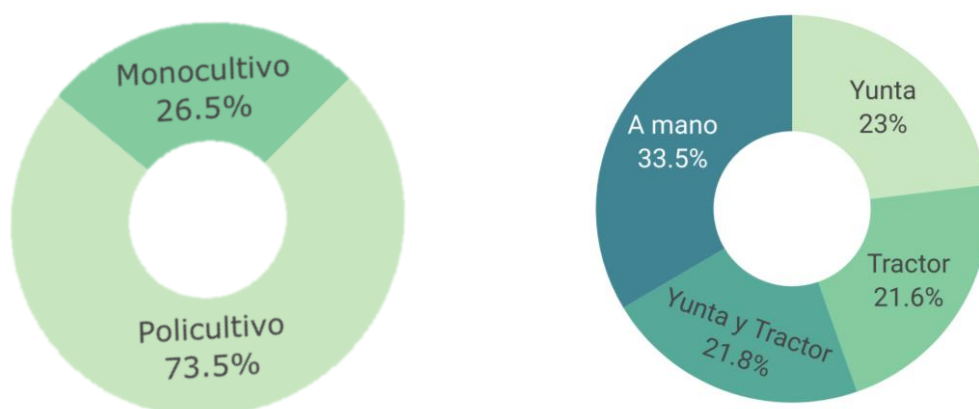


Figura 32a. Proporción de terrenos dedicados al monocultivo y al policultivo

32b. Nivel de tecnificación en los terrenos

Tabla 12. Insumos empleados

Insumos	Nombre y número de personas que lo aplican
Fertilizantes químicos	Urea (115), sulfato (44), blanco (31), negro (23), Triple 17 (21), DAP (14), no especificado (125)
Herbicidas	Paraquat (119), glifosato (42), 2-4D (39), picloram (14), dicamba (4), atrazina (1), nicosulfuron (1), no especificado (11)
Insecticidas	Paratión (41), cipermetrina (25), carbofuran (13), clorpirifos (6), metamidofos (5), spinetoram (5), lambda cyalotrina (3), deltametrina (2), maliatión (2), permetrina (2), thidicarb (1), no especificado (6)

El origen de las semillas fue clasificado por categorías (Figura 33): familia/autoabastecimiento, vecinos de la misma comunidad, con personas de otra comunidad (dentro del estado), de comercio/casa agropecuaria u otro (fuera del estado). Los años de manejo de las semillas van de 1 (primer ciclo de siembra) a más de 50, distribuyéndose con la frecuencia presentada en la Figura 34.

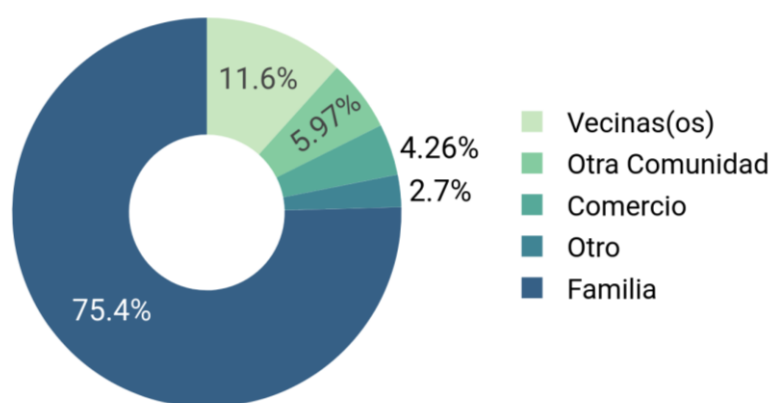


Figura 33. Origen de las semillas

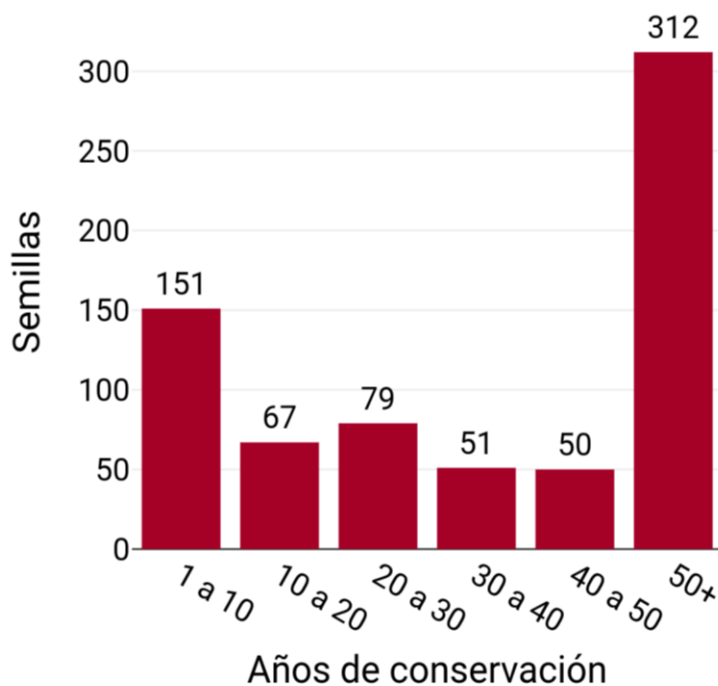


Figura 34. Años de conservación de las semillas

El principal uso que se le da a las semillas cosechadas se muestra en la Figuras 35a; de manera separada se preguntó específicamente si se vende o dona la semilla (Figura 35b), los que respondieron afirmativamente (248), en su mayoría (90.7%) lo hacen dentro de la misma comunidad con vecinos(as), a tortillerías o en mercados; y una pequeña fracción (9.3%) lo realiza en otras comunidades. La variedad de alimentos preparados con el maíz que los entrevistados mencionaron son: tortillas, aguas frescas (tepache, pozol, tejate), totopos⁶, atoles, pozole, tamales, pinole, dulce de chilacayote, tostadas, empanadas, granillo, dulces, nicuatole, pastel de elote, chilate, agua de masa, popo, chileatole. El tipo de contenedor⁷ para el almacenaje de las semillas se muestra en la Tabla 13, adicionalmente 152 personas indicaron el lugar donde ubican el contenedor: 45 en casa, 40 en una casa/granero/rancho aparte, 67 en troja.

⁶ Son un tipo de tortilla perforada, elaborada preferentemente con maíz de la raza Zapalote chico, que es cocida en las paredes de un horno de barro hasta que alcanza una consistencia crujiente, cuya preparación

⁷ Algunas personas indicaron la aplicación de algún añadido en el contenedor para control de gorgojo: 34 con pastilla (fosforo de aluminio), 11 cal, 2 garaneril, 2 foley, 5 folidol.

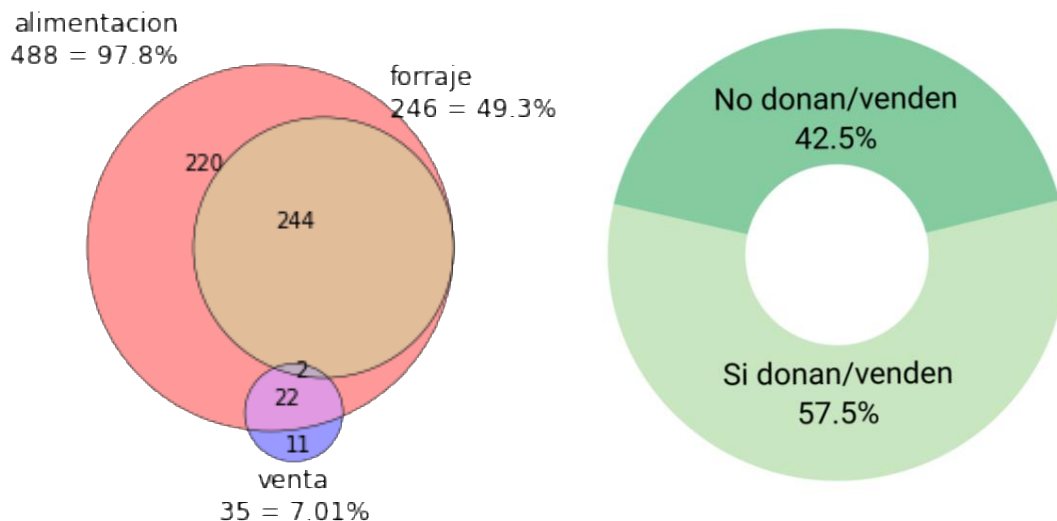


Figura 35 Destino de las semillas cosechadas **a.** Principal
b. Proporción de Venta/donación

Tabla 13. Contenedores en los que se almacenan las semillas

Tipo de contenedor	Productores(as)*
Costales	289
Botes / tambos	89
Contenedor de metal	69
Redes	23
Canastas	9
Otro	18

*Varias personas usan más de un tipo de contenedor, por ello el total da un número mayor al total de productoras(es)

4.3.5 Veracruz

Como ya se mencionó, los datos y muestras de maíz provenientes de Veracruz, se vieron limitados por cuestiones que rebasaron las capacidades de operación del proyecto. Sin embargo la muestra es estadísticamente representativa. Se aplicaron 60 encuestas a agricultores que producen maíz en 31 localidades, que donaron en total 88 muestras de maíces. El rango de edades fue entre los 23 y los 86 años, con un promedio de 50.6 años, con un 49% de personas arriba de 50 años de edad. El 71.6% de los participantes habla la lengua de un grupo étnico: 24 nahuatl (mexicano), 11

totonaco (exónimo de un conjunto de lenguas) y 8 popoluca (exónimo de un conjunto de lenguas). La tenencia de la tierra (Figura 36) se divide en comunal y ejidal, cerca de una tercera parte de los entrevistados declararon que la tierra era rentada sin especificar el tipo de tenencia.

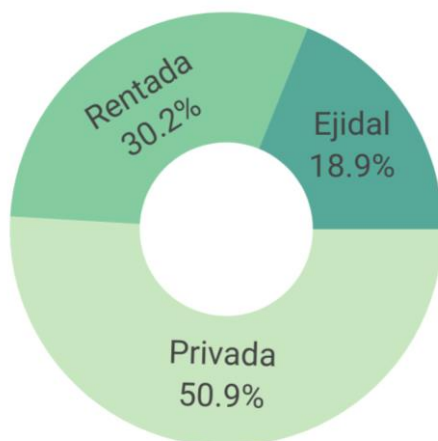


Figura 36. Tenencia de la tierra

El 89.8% de las muestras donadas eran de maíces nativos, el resto de variedades de híbridos, 42 agricultores donaron una variedad de semilla, 10 donaron dos variedades y 8 donaron tres o más variedades. De las variedades donadas, 52 personas donaron sólo maíces nativos, 2 personas donaron sólo híbridos y 6 personas donaron tanto híbridos como nativos. Las variedades nativas e híbridas se nombraron según el color (Figura 37a y 37b).

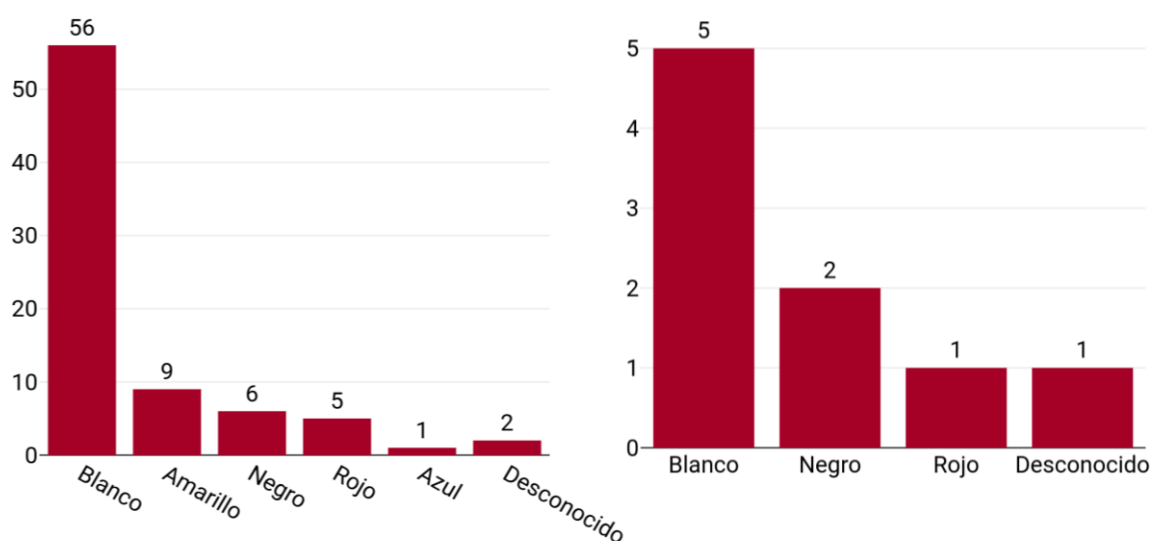


Figura 37 Variedades de maíz

a. Nativos

b. Híbridos

El tamaño de la superficie de los terrenos fue en promedio de 4.47 ha, la moda de la superficie dedicada tanto al maíz nativo (17 terrenos) como al híbrido coincide en 1 ha (5 terrenos). El 72% son pequeña propiedad (<5 ha.), el 45% de los terrenos tienen una superficie igual o menor a una hectárea. En cuanto a la variedad de maíz sembrada en los terrenos hay una mayor tendencia al cultivo de maíces nativos Tabla 14.

Tabla 14. Superficie de siembra en relación con el tipo de maíz sembrado

	Terrenos <5ha	Terrenos ≤1ha
Nativos	34	21
Híbridos	7	5
Total	41	26

La mayor parte de los agricultores practican el policultivo (Figura 38); con un uso sobresaliente de tractor en el 73.3% de los casos. El uso de insumos agrícolas⁸ se resume en la Tabla 15 en la que los nombres de los fertilizantes químicos, los herbicidas y los insecticidas fueron reclasificados por compuesto activo/nombre según la lista COFEPRIS (2018).

⁸ Se aplican solo o en combinación por cada categoría

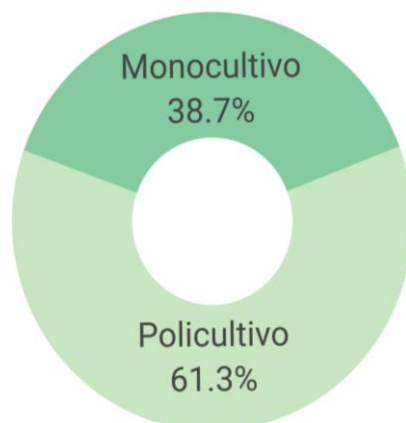


Figura 38. Proporción de terrenos dedicados al monocultivo y al policultivo

Tabla 15. Insumos utilizados por los entrevistados

Insumos	Nombre y número de personas que lo aplican
Fertilizantes químicos	Urea (31), DAP 18-46-00 (7), triple 17 (3)
Herbicidas	Glifosato (23) paraquat (7), otros: fitoamina, fumina y primogran (3)
Insecticidas	Paratión metílico (7), cipermetrina (4), clorpirifos etil (6), metamidofos (1), thidicarb (2), malatión (1), spinetoram (6), otro: Flafan, Glyfon, Paker, Pectrina, Denil (5)

En todos los casos se indicó que la semilla era de origen local. Los años de manejo de las semillas van de 1 (primer ciclo de siembra) a más de 50, distribuyéndose con la frecuencia presentada en la Figura 39. Todas las personas entrevistadas indicaron que el uso para preparar alimentos, dos de ellas añadieron el uso como forraje y sólo una mencionó que además lo vende. Los alimentos nombrados fueron: tortillas, totopos, atole, bebidas frescas, tamales y pozol. Finalmente 27 personas especificaron el tipo de contenedor en el que almacenan las semillas (principalmente costales, algunos en botellas, tambos, contenedor de piedra o madera).

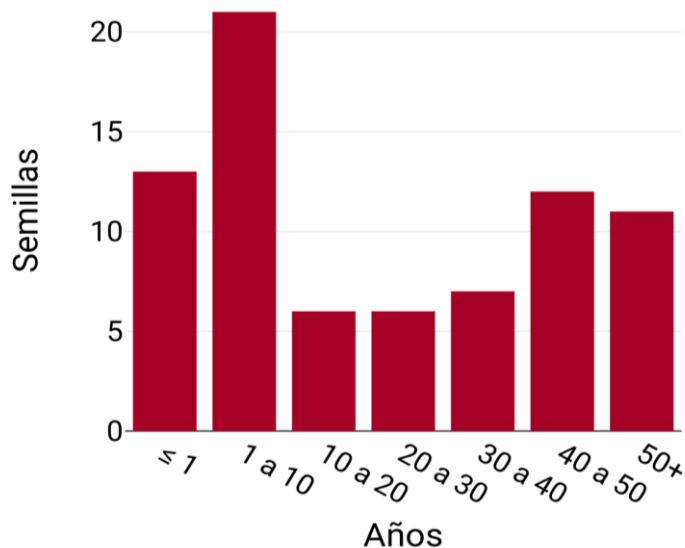


Figura 39. Origen de las semillas

4.4 Acondicionamiento de las muestras colectadas y optimización de los protocolos de laboratorio

4.4.1 Acondicionamiento de las muestras colectadas

Para el procesamiento de las muestras de maíz obtenidas en campo, ya en el laboratorio se eligieron 4 hileras de granos a manera de ejes cartesianos (desde una perspectiva transversal de la mazorca) de cada una de las mazorcas muestreadas por hogar visitado y por variedad; se tomaron los granos de las hileras seleccionadas de cada mazorca colectada y para cada una de las variedades; los granos obtenidos de cada mazorca se agregaron por cada una de las variedades para ser procesados los granos a harina y posteriormente realizar los análisis de laboratorio. En el caso de las muestras en grano, estas ya venían “aleatorizadas” desde la colecta, por lo que sólo se extendió la muestra y se dividió en dos conjuntos, de cada conjunto se tomaron 250 granos para para ser procesados a harina y su posterior análisis.

Para cada acervo o lote de semillas se tomaron datos acerca de sus características morfológicas, color, origen. Cada muestra fue re-etiquetada con una clave de laboratorio y registrada en una bitácora. Para fines fitosanitarios, se revisó que las muestras estuvieran libres de plagas. Sin embargo, para mayor seguridad, ya en la bodega del laboratorio se aplicó un tratamiento de Fosfuro de Aluminio para

eliminar los insectos que pudieran estar presentes en las muestras de mazorca y/o grano de maíz colectadas.

4.4.2 Optimización de los protocolos de PCR y químicas utilizadas para el análisis de muestras reportadas

Durante el desarrollo del presente proyecto se implementaron y optimizaron protocolos de extracción de ácidos nucleicos (ADN) de los materiales vegetales (semillas) que fueron la base para la detección e identificación de las secuencias recombinantes en los cultivos mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (PCR-TR). Adicionalmente, se optimizaron los protocolos de determinación de la presencia e identificación de elementos transgénicos tales como el promotor 35S CaMV, el terminador NOS y los eventos transgénicos específicos para maíz.

Para los estados de Chiapas, CDMX, Oaxaca y Veracruz, las reacciones de PCR en tiempo real se llevaron a cabo mediante la química de *TaqMan*® que consiste en añadir además de los cebadores una sonda de secuencia específica para el ADN blanco que está marcada con un fluoróforo. Las sondas y cebadores se diseñaron según el método de referencia de la JRC (Joint Research Centre) de la Unión Europea (JRC, 2018). En las Tablas 16 a 19 se enlistan las secuencias y sondas utilizadas así como algunas de sus características.

Tabla 16. Secuencias de los cebadores empleados para el escrutinio de la presencia de transgénicos en maíz

Nombre	Secuencia	No. pb	Marca
CaMV P35s-Fwd	GCCTCTGCCGACAGTGGT	18	Applied Biosystems
CaMV P35s-Rev	AAGACGTGGTTGGAACGTCTTC	22	Applied Biosystems
Tnos-Fwd	CATGTAATGCATGACGTTATTTATG	25	Applied Biosystems
Tnos-Rev	TTGTTTTCTATCGCGTATTAAATGT	25	Applied Biosystems

Tabla 17. Secuencias de las sondas empleadas para el escrutinio de la presencia de transgénicos en maíz mediante qPCR por *TaqMan*

Secuencia Diana	Nombre	Secuencia 5'-3'	No. pb	Marca
CaMV P35s	P35s-S	VIC-TCTCCACTGACGTAAGGGATGACGCA-QSY	26	Applied Biosystems
Tnos	Tnos-S	FAM-TGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAAT-QSY	28	Applied Biosystems

Tabla 18. Secuencias de los cebadores empleados para la detección de eventos transgénicos específicos en maíz mediante qPCR por *TaqMan*

Evento	Nombre	Secuencia 5'-3'	No. pb	Marca
Mon810	Mon810 Fwd	TCGAAGGACGAAGGACTCTAACGT	24	Applied Biosystems
	Mon810 Rev	GCCACCTTCCTTTTCCACTATCTT	24	Applied Biosystems
NK603	NK603 Fwd	ATGAATGACCTCGAGTAAGCTTGTTAA	27	Applied Biosystems
	NK603-Rev	AAGAGATAACAGGATCCACTCAACACT	27	Applied Biosystems
TC1507	TC1507 Fwd	TAGTCTTCGGCCAGAATGG	19	Applied Biosystems
	TC1507-Rev	CTTTGCCAAGATCAAGCG	18	Applied Biosystems

Tabla 19. Secuencias de las sondas empleadas para la detección de eventos transgénicos específicos en maíz

Evento	Secuencia 5'-3'	No. pb	Marca
Mon810	6FAM-AACATCCTTTGCCATTGCCAGC-TAMRA	23	Applied Biosystems
NK603	6FAMTGGTACCACGCGACACTTCCACTCTAMRA	26	Applied Biosystems
TC1507	6FAM-TAACTCAAGGCCCTCACTCCG-TAMRA	21	Applied Biosystems

Para el escrutinio, se optimizó un ensayo dúplex que permitió detectar en una misma reacción al promotor p35S marcado con el fluoróforo VIC y al terminador T-Nos que se marcó con FAM; ambas sondas y todos los cebadores utilizados fueron sintetizadas por Applied Biosystems. Las concentraciones finales de trabajo fueron de 0.4 μ M para cada cebador, 0.17 μ M para la sonda CamV P35s del promotor y 0.15 μ M para la sonda Tnos del terminador. Se utilizaron siempre 100 ng de ADN como templado. La mezcla final de reacción utilizando 7.5 μ L de Maxima Probe/ROX qPCR Master Mix de *Applied Biosystems*® se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20. Concentraciones finales utilizadas en las reacciones dúplex Promotor/Terminador

Componente	Concentración final	Volumen por rx (1x)	Volumen por placa de 48	Volumen por placa de 96
Agua	NA	2. 15 μ L	107.5 μ L	215 μ L
Máxima (2X)	1X	7.5 μ L	375 μ L	750 μ L
CaMV P35s-F (10 μ M)	0.4 μ M	0.6 μ L	30 μ L	60 μ L
CaMV P35s-R(10 μ M)	0.4 μ M	0.6 μ L	30 μ L	60 μ L
Sonda CaMV (5 μ M)	0.17 μ M	0.5 μ L	25 μ L	50 μ L
Tnos-F (10 μ M)	0.4 μ M	0.6 μ L	30 μ L	60 μ L
Tnos-R (10 μ M)	0.4 μ M	0.6 μ L	30 μ L	60 μ L
SondaTnos (5 μ M)	0.15 μ M	0.45 μ L	22.5 μ L	45 μ L
DNA (50 ng/ μ L)	100 ng	2.0 μ L		
Volumen Final		15 μ L		

Para los eventos específicos se utilizaron reacciones sencillas cuya mezcla de reacción se presenta en la Tabla 21. Nuevamente se utilizaron 7.5 µL de Maxima Probe/ROX qPCR Master Mix de *Applied Biosystems*® y las concentraciones finales de cebadores u oligos fueron de 0.15 µM y para la sonda 0.005 µM, utilizando 100 ng de ADN como templado.

Tabla 21. Concentraciones finales utilizadas para la detección de eventos específicos

Componente	Concentración final	Volumen por rx (1x)	Volumen por placa de 48	Volumen por placa de 96
Agua	NA	4.9 µL	245 µL	490
Máxima (2X)	1X	7.5 µL	375 µL	750
Oligo Fw (10µM)	.15 µM	0.225 µL	11.25 µL	11.25
Oligo Rv (10µM)	.15 µM	0.225 µL	11.25 µL	11.25
Sonda (5µM)	0.05 µM	0.15 µL	7.5 µL	15
DNA (50 ng/ µL)	100 ng	2.0 µL		
Volumen Final		15 µL		

Para el análisis de las muestras provenientes de Michoacán, las qPCRs se llevaron a cabo utilizando como fluoróforo *SYBR*® *Green* que es una molécula que se intercala a las dobles cadenas de ADN. Para asegurar que la amplificación es específica, el programa de ciclado incluye una curva de desnaturalización que permite asegurar que los productos obtenidos son iguales a los del control.

Las reacciones de qPCR se efectuaron en un volumen total de 7 µl, conteniendo: 2 µl de ADN templado (50 ng/µl), 3 µl de *SYBR*® *Green* PCR Mastermix con ROX (*Applied Biosystems*®) y 5µM de cada cebador. En la Tabla 22 se muestran las características de los cebadores.

Tabla 22. Secuencias de los cebadores empleados para el escrutinio de presencia de transgénicos en maíz mediante qPCR por SYBR Green

Secuencia Diana	Nombre	Secuencia 5'-3'	No. pb	Marca
CaMV	P35S-F	GCCTCTGCCGACAGTGGT	18	<i>Applied Biosystems</i>
P35S	P35S-R	AAGGCGTGGTTGGAACGTCTT	21	<i>Applied Biosystems</i>
T-Nos	T-Nos F	CATGTAATGCATGACGTTATTTAT	24	<i>Applied Biosystems</i>
	T-Nos R	TTGTTTTCTATCGCGTATTAAATGT	25	<i>Applied Biosystems</i>

Para la detección de eventos específicos, las reacciones de qPCR se efectuaron en un volumen total de 7 µl, conteniendo: 2 µl de ADN templado (50 ng/µl), 3 µl de *SYBR*® *Green* PCR Mastermix con ROX (*Life Technologies, Thermo Scientific*) y 5 µM de cada cebador. Las concentraciones finales se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Secuencias de los cebadores empleados para la detección de eventos transgénicos específicos en maíz mediante qPCR utilizando SYBR Green

EVENTO	NOMBRE	SECUENCIA	No. pb	Marca
MON810	MON810-F	GATGCCTTCTCCCTAGTGTTGA	22	Applied Biosystems
	MON810-R	GGATGCACTCGTTGATGTTTG	21	Applied Biosystems
NK603	NK603-F	ATGAATGACCTCGAGTAAGCTTGTT AA	27	Applied Biosystems
	NK603-R	AAGAGATAACAGGATCCACTCAAC ACT	27	Applied Biosystems
TC1507	TC1507-F	TAGTCTTCGGCCAGAATGG	19	Applied Biosystems
	TC1507-R	CTTGGCCAAGATCAAGCG	18	Applied Biosystems

Tanto los ensayos con *TaqMan*® (dúplex y sencillos) como los realizados con *SYBR*® *Green* se llevaron a cabo en termocicladores *Applied Biosystems StepOne Real-Time PCR System*© y *Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR System*©. El primero tiene una capacidad de 48 pozos y un Sistema de 3 filtros calibrados para los siguientes fluoróforos: filtro 1: Sybr o FAM, filtro 2: JOE o VIC y filtro 3: ROX. El *StepOnePlus* tiene una capacidad para 96 pozos y un sistema de 4 filtros que permite detectar los siguientes fluoróforos: filtro 1: Sybr o FAM, filtro 2: JOE o VIC, filtro 3: NED o TAMRA y filtro 4: ROX.

Ensayando por triplicado cada muestra, se analizaron 13 muestras por placa de 48 con sus respectivos controles como se observa a continuación en la Figura 40 y 29 muestras por placa de 96 como lo muestra la Figura 41.

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	CP-1	CP-2	CP-3	S4-1	S4-2	S4-3	S10-1	S12-1
B	CN-1	CN-2	CN-3	S5-1	S5-2	S5-3	S10-2	S12-2
C	MOCK-1	MOCK-2	MOCK-3	S6-1	S6-1	S6-3	S10-3	S12-3
D	S1-1	S1-2	S1-3	S7-1	S7-2	S7-3	S11-1	S13-1
E	S2-1	S2-2	S2-3	S8-1	S8-2	S8-3	S11-2	S13-2
F	S3-1	S3-2	S3-3	S9-1	S9-2	S9-3	S11-3	S13-3

SIMBOLOGÍA:
 CP: Control Positivo
 CN: Control Negativo
 Mock: Control de reactivos
 S: muestra por analizar

Figura 40. Esquema del llenado de una placa de 48 pozos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1-1	S1-2	S1-3	S9-1	S9-2	S9-3	S17-1	S17-2	S17-3	S25-1	S25-2	S25-3
B	S2-1	S2-2	S2-3	S10-1	S10-2	S10-3	S18-1	S18-2	S18-3	S26-1	S26-2	S26-3
C	S3-1	S3-2	S3-3	S11-1	S11-2	S11-3	S19-1	S19-2	S19-3	S27-1	S27-2	S27-3
D	S4-1	S4-2	S4-3	S12-1	S12-2	S12-3	S20-1	S20-2	S20-3	S28-1	S28-2	S28-3
E	S5-1	S5-2	S5-3	S13-1	S13-2	S13-3	S21-1	S21-2	S21-3	S29-1	S29-2	S29-3
F	S6-1	S6-2	S6-3	S14-1	S14-2	S14-3	S22-1	S22-2	S22-3	CP-1	CP-2	CP-3
G	S7-1	S7-2	S7-3	S15-1	S15-2	S15-3	S23-1	S23-2	S23-3	CN-1	CN-2	CN-3
H	S8-1	S8-2	S8-3	S16-1	S16-2	S16-3	S24-1	S24-2	S24-3	MOCK-1	MOCK-2	MOCK-3

Figura 41. Esquema del llenado de una placa de 96 pozos

Para los ensayos en los que se usó *TaqMan*®, el programa de amplificación se compuso de 2 etapas. La primera consistió en un único ciclo de activación de la polimerasa (o *HotStart*) a 50 °C durante 2 minutos y posteriormente un paso de desnaturalización a 95 °C por 10 minutos. La segunda etapa, de 45 ciclos, consistió en un segundo paso de desnaturalización a 95 °C durante 15 segundos seguido de un paso de extensión o amplificación a 60 °C por 1 minuto (Figura 42).

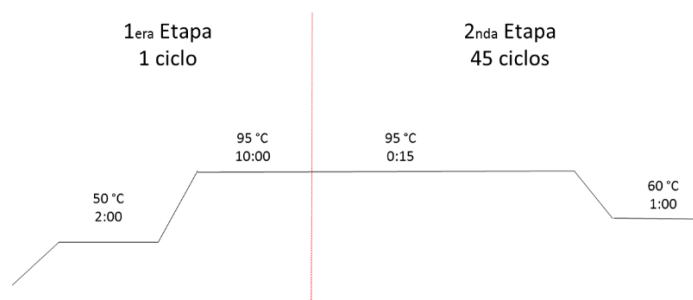


Figura 42. Programa utilizado en este ensayo para la amplificación por qPCR de los marcadores transgénicos

Por último, para los ensayos corridos con *SYBR*®*Green*, el programa de ciclado se realizó bajo el siguiente programa específico de 40 ciclos: un único ciclo de activación de la enzima ADN polimerasa por 2 minutos a 50 °C y 10 minutos a 95 °C, seguido de 40 ciclos de amplificación de 15 segundos a 95 °C (desnaturalización) y 1 minuto a 60 °C (alineamiento y extensión). Luego de finalizada la reacción de amplificación, se programa un ciclo para las curvas de fusión (curvas de *melting*) de

los productos obtenidos. Para ello se programó 15 segundos a 95 °C, 1 minuto a 60 °C y 15 segundos a 95 °C.

4.5 Sistematización y análisis de la información de los resultados de laboratorio

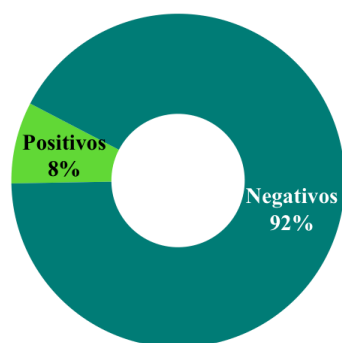
A partir del trabajo de campo realizado en el contexto de esta investigación, se recabaron 1633 muestras de distintos lotes de maíz cultivados por 1180 agricultores entrevistados⁹ en los cinco estados estudiados. Del total de muestras recabadas, se pudo llevar a cabo la extracción de ADN de 1580 muestras. La diferencia entre muestras recolectadas y aquellas de las que se pudo purificar ADN estriba en que una fracción de las muestras presentaron infestación con insectos u hongos, por lo que tuvieron que ser descartadas. En la Tabla 24 se resume la información referente al número de muestras analizadas.

Tabla 24. Se presentan el total de muestras de maíz colectadas, por estado. La diferencia entre las muestras colectadas y las muestras analizadas para la posible presencia de transgenes, corresponde a las muestras que tuvieron que ser descartadas por presencia de hongos o infestación por insectos.

ESTADO	MUESTRAS COLECTADAS	MUESTRAS ANALIZADAS
OAXACA	656	626
VERACRUZ	94	87
MICHOACAN	148	148
CDMX	263	258
CHIAPAS	472	461
TOTAL	1633	1580

El primer paso de análisis molecular para determinar la posible presencia de secuencias transgénicas consistió en la amplificación de fragmentos específicos de las secuencias para el promotor 35S del Virus del Mosaico de la Coliflor (p35S) y el terminador de la Nopalina Sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* (T-Nos), utilizando química SYBR® Green (Michoacán) o un multiplex de ambas secuencias con química TaqMan® a través de una RT-PCR (para detalles técnicos, ver secciones 2-1 a 2.3). En la Figura 43 se presentan los resultados generales obtenidos en este estudio para la presencia de transgenes. Nótese que en esta figura y figuras subsecuentes, los porcentajes obtenidos se redondearon a la siguiente cifra.

⁹ Ver nota específica para el caso de Michoacán, donde hubo más agricultores que donaron semilla de maíz, que aquellos entrevistados y que donaron semilla.



Eventos específicos	positivos	%
MON810	2	1.6
NK603	8	6.5
TC1507	8	6.5

Figura 43. Total de muestras analizadas: 1580. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 1455 (92.1 %). Muestras positivas para la presencia de transgenes: 125 (7.9 %)

Para las muestras positivas para la presencia del p35S y/o el T-Nos, inicialmente se analizaron los 6 eventos contemplados en la sección 2.3 de este reporte, sin embargo, dado que sólo se detectaron algunas muestras positivas para 3 eventos: MON810, NK603 y TC1507, se decidió continuar los análisis posteriores sólo con estos eventos.

A nivel mundial existen 229 eventos transgénicos de maíz aprobados para consumo humano y animal (ISAAA, 2018), de los cuales el 51.52% (118 eventos) contienen al menos alguno de los eventos transgénicos analizados en este trabajo (MON810, NK603, TC1507). Sin embargo, cabe añadir que investigaciones previas enfocadas en determinar la presencia de transgenes en alimentos derivados de maíz en México, indican que estos eventos son los más comunes en alimentos procesados (González-Ortega *et al.*, 2017). Dado que se considera que la presencia de estos eventos en alimentos se debe muy probablemente a la utilización de grano importado en la elaboración de productos procesados, este grano podría, inadvertidamente, ser introducido a las parcelas.

En la Figura 44 se resume la información referente a las secuencias de origen transgénico que fueron amplificadas en esta investigación, desglosando su frecuencia por tipo de marcador y/o evento.

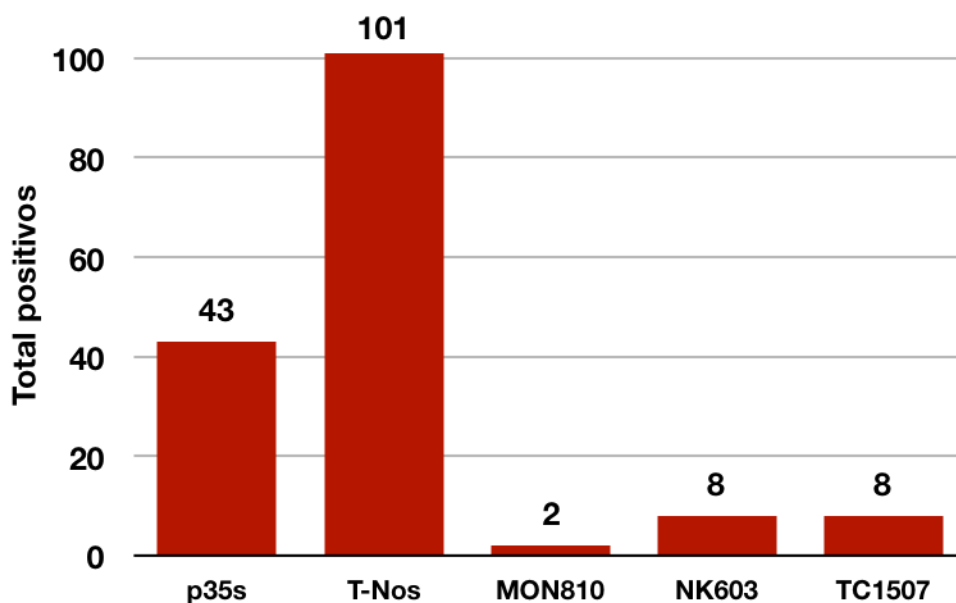


Figura 44. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado en las muestras de los 5 estados

De las 125 muestras de maíz que amplificaron algún marcador de transgénesis, 43 muestras (34.4% del total de positivos), amplificaron el p35S; 101 muestras amplificaron el T-Nos (80%); 2 muestras fueron positivas para el evento MON810 (1.6%) y 8 muestras para los eventos NK603 y TC1507, respectivamente (6.5% cada uno).

El hecho de que sólo una pequeña fracción de muestras positivas para los marcadores de transgénesis resultara positiva para uno o más eventos específicos, sugiere que dichos eventos son infrecuentes en campo y que estas secuencias transgénicas están relacionadas con otros eventos no analizados en este estudio. Otra posibilidad es que las construcciones recombinantes no se encuentran íntegras en los materiales analizados por lo que no se logró amplificar el evento específico. Esto podría deberse a fenómenos de recombinación ilegítima en los nuevos contextos genéticos donde fueron detectados (primordialmente maíces nativos).

En la siguiente sección se desglosa la presencia y composición de transgenes en cada uno de los estados donde se colectaron lotes de semilla de maíz.

4.6 Determinación de la frecuencia de transgenes y diagnóstico sobre el estado de la presencia de maíz GM en los sitios prioritarios de los estados bajo estudio

4.6.1 Chiapas

En total, dentro de este estado se colectaron 472 muestras de maíz, de las cuales 461 fueron procesadas y analizadas para determinar la presencia de secuencias transgénicas. Dichos análisis fueron realizados en los laboratorios de la Ciudad de México.

En la Figura 45 se presenta un resumen de las muestras detectadas como positivas y en la Figura 46 se muestran los puntos geográficos en los que se encontró presencia de transgenes en al menos una muestra.

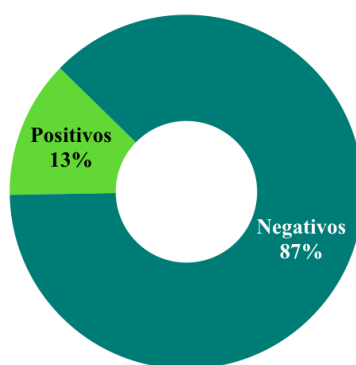


Figura 45. Total de muestras analizadas: 461. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 403 (87.4%). Muestras positivas para la presencia de transgenes: 58 (12.6%)

De las 461 muestras analizadas, 58 resultaron positivas para algún marcador molecular de transgénesis. En la Figura 47 se detalla la distribución de muestras positivas para todos los marcadores moleculares de transgénesis y/o eventos específicos analizados en esta investigación.

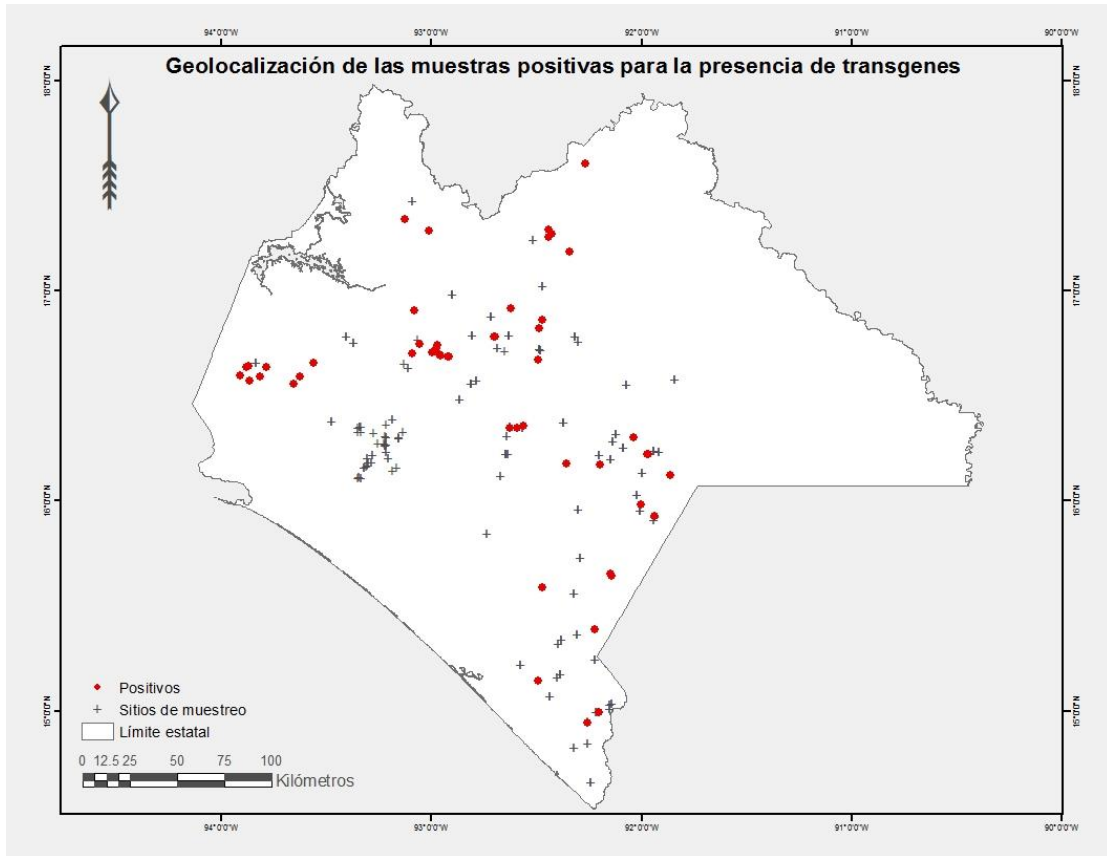


Figura 46. Mapa de la presencia detectada de transgenes en Chiapas

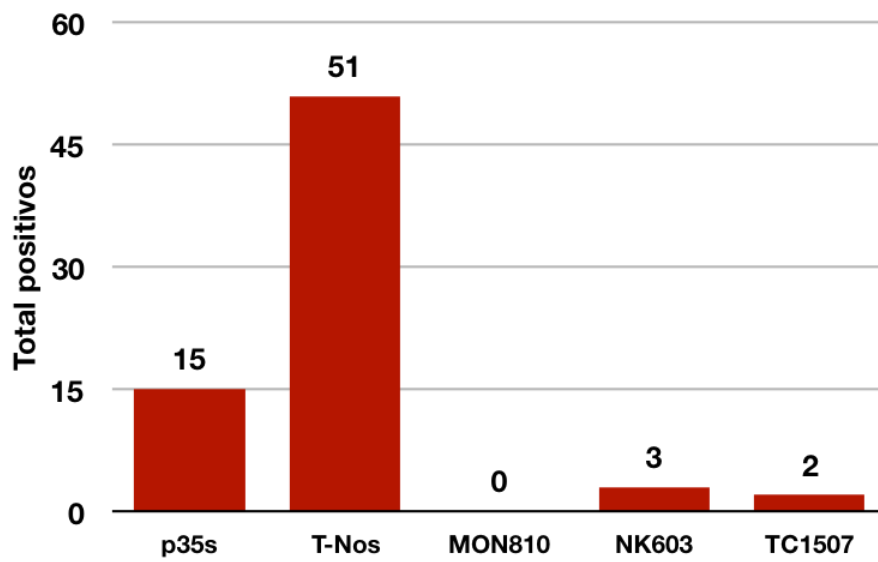


Figura 47. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado, para el Estado de Chiapas

De las 58 muestras positivas para la presencia de algún marcador molecular de transgénesis, 15 fueron positivas para el p35S (25.8%), mientras que 51 muestras fueron positivas para el T-Nos (87.9%). No se detectaron muestras positivas para MON810, mientras que 3 muestras amplificaron el evento NK603 (5.1%) y 2 el evento TC1507 (3.4%).

4.6.2 Ciudad de México

En la Ciudad de México se colectaron 263 muestras procedentes de diferentes alcaldías que cuentan con suelo de conservación donde se practica agricultura. En total, 258 muestras fueron procesadas para evaluar la posible presencia de transgenes. En la Figura 48 se presentan los resultados globales del análisis de laboratorio para esta entidad; en la Figura 49 se muestran los puntos geográficos en los que al menos una de las muestras analizadas dio positivo en la detección de transgenes.

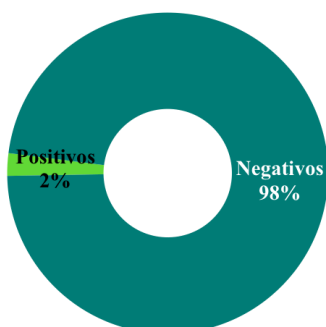


Figura 48. Total de muestras analizadas: 258. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 252 (97.7%).
Muestras positivas para la presencia de transgenes: 6 (2.3%)

Los análisis moleculares realizados para evaluar la presencia de transgenes en muestras procedentes de la Ciudad de México arrojaron 6 muestras positivas para al menos una secuencia transgénica. En la Figura 50 se detalla la distribución de frecuencias para los marcadores moleculares y eventos específicos analizados.

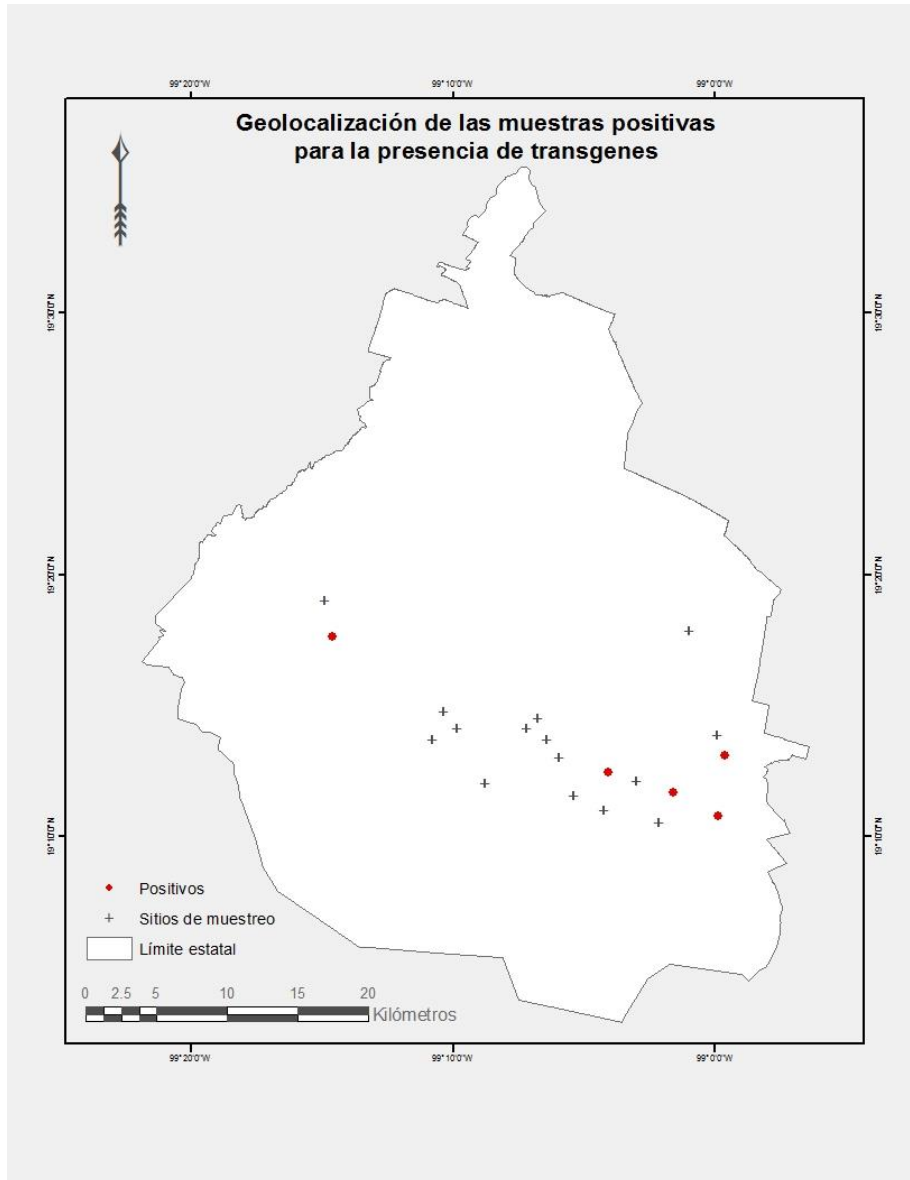


Figura 49. Mapa de la presencia detectada de transgenes en Ciudad de México

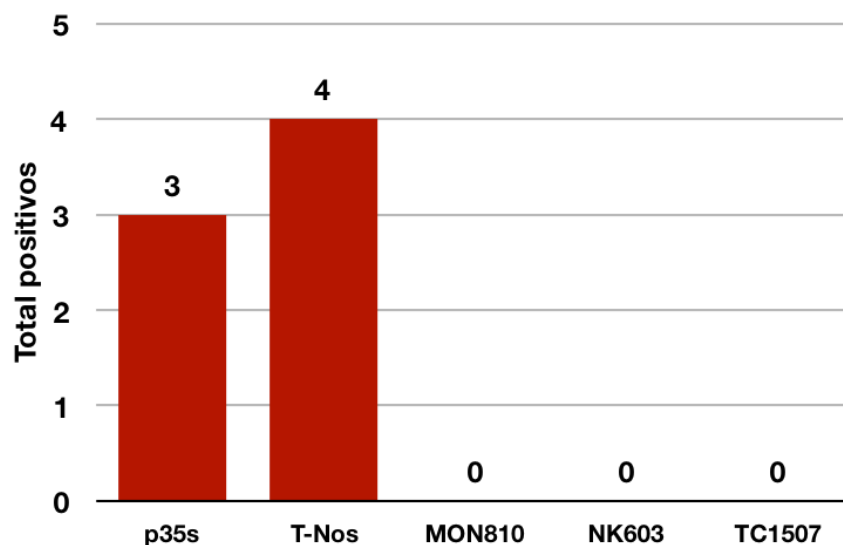


Figura 50. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado para la Ciudad de México

Para las 6 muestras positivas para la presencia de algún transgen, se detectaron 3 muestras positivas para el p35S (50%) y 4 para el T-Nos (66.6%), mientras que no se detectaron muestras positivas para los 3 eventos analizados.

4.6.3 Michoacán

Como ya se mencionó, el trabajo de campo en el estado de Michoacán fue encabezado por la Dra. Patricia Delgado Valerio, de la Universidad Nicolaíta, junto con un grupo de estudiantes a su cargo, mientras que el procesamiento, extracción de ADN y análisis molecular fue realizado en conjunto con el Laboratorio del Instituto de Ecología de la UNAM. Es importante destacar que todas las muestras analizadas cuentan con datos de su procedencia, se haya o no aplicado la encuesta.

Para este Estado se reportan los resultados para 148 muestras de maíz analizadas en el laboratorio para determinar la posible presencia de secuencias transgénicas (Figura 51). En la Figura 52 se muestran los puntos geográficos en los que se detectó la presencia de transgenes en al menos una muestra.

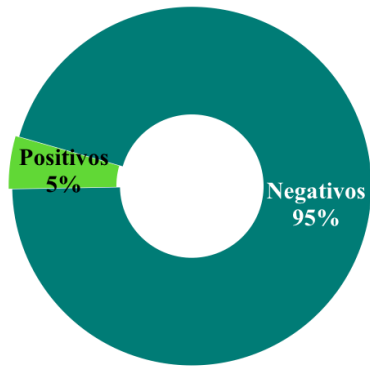


Figura 51. Total de muestras analizadas: 148. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 141 (95.3%).
Muestras positivas para la presencia de transgenes: 7 (4.7%)

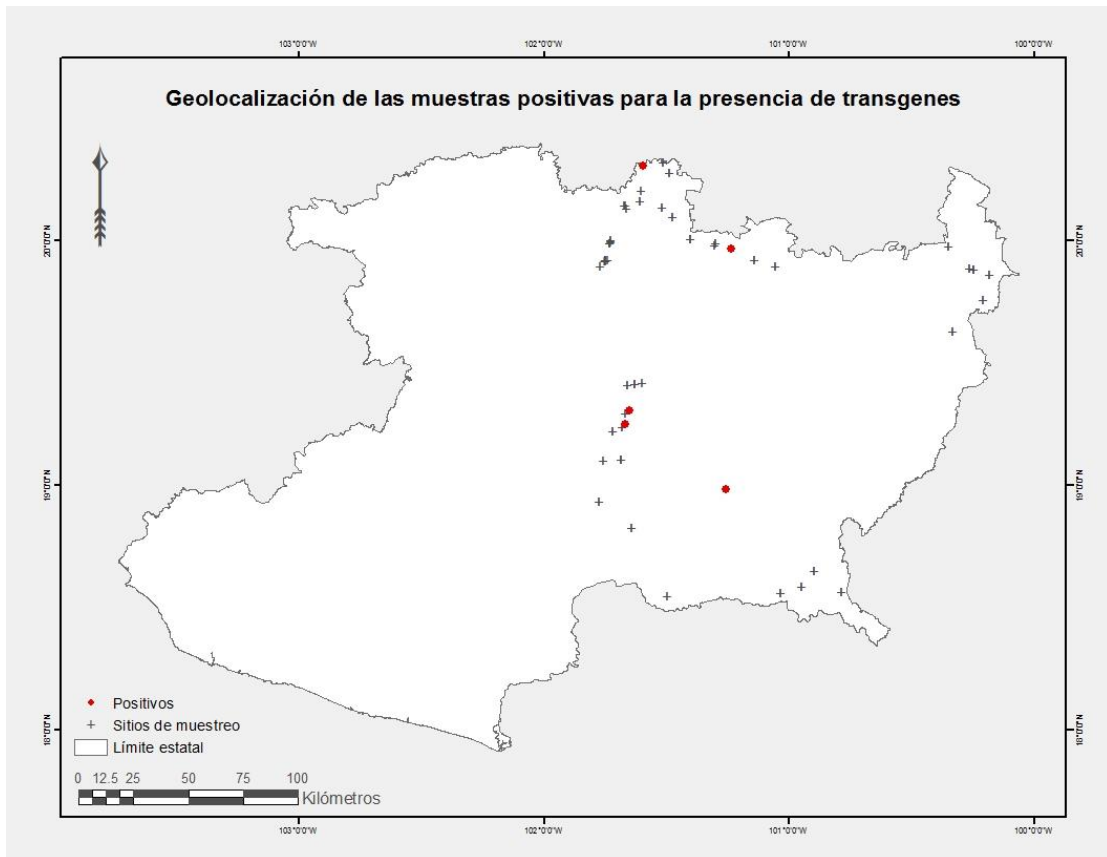


Figura 52. Mapa de la presencia detectada de transgenes en Michoacán

Del total de muestras analizadas por RT-PCR para la presencia del promotor p35S y el terminador T-Nos, únicamente 7 muestras (4.7% del total) amplificaron para estos marcadores. De estas muestras positivas, 6 lo fueron para el p35S y 1 para el T-Nos. De estas 7 muestras, ninguna amplificó ninguno de los tres eventos analizados (Figura 53).

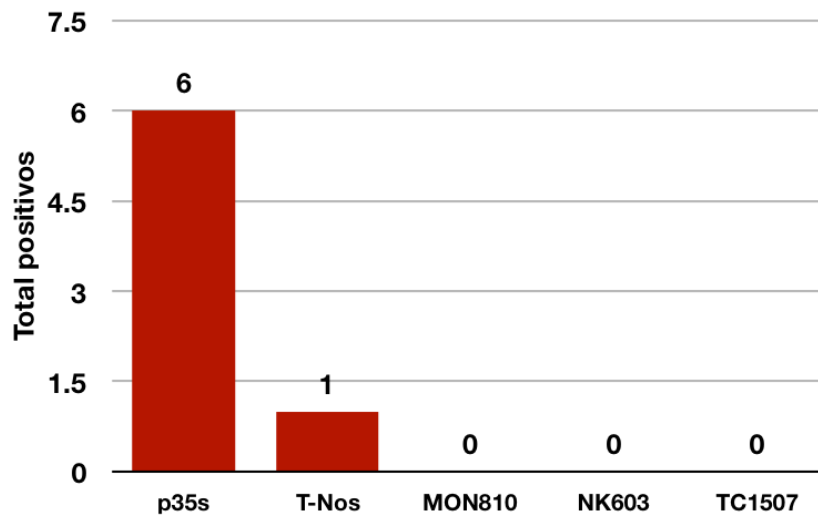


Figura 53. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado para el estado de Michoacán

4.6.4 Oaxaca

En Oaxaca se colectaron 656 muestras de maíz procedentes de agricultores de diferentes partes del estado. De estas muestras, 626 fueron analizadas por RT-PCR en los laboratorios de la Ciudad de México (Figura 54). En la Figura 55 se muestran los puntos geográficos en los que se encontró presencia de transgenes en al menos una muestra.

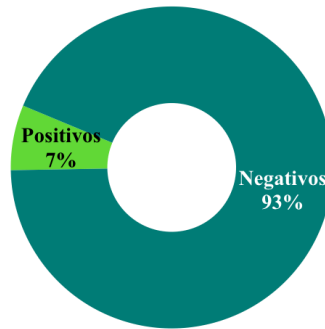


Figura 54. Total de muestras analizadas: 626. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 585 (93.5%). Muestras positivas para la presencia de transgenes: 41(6.5%)

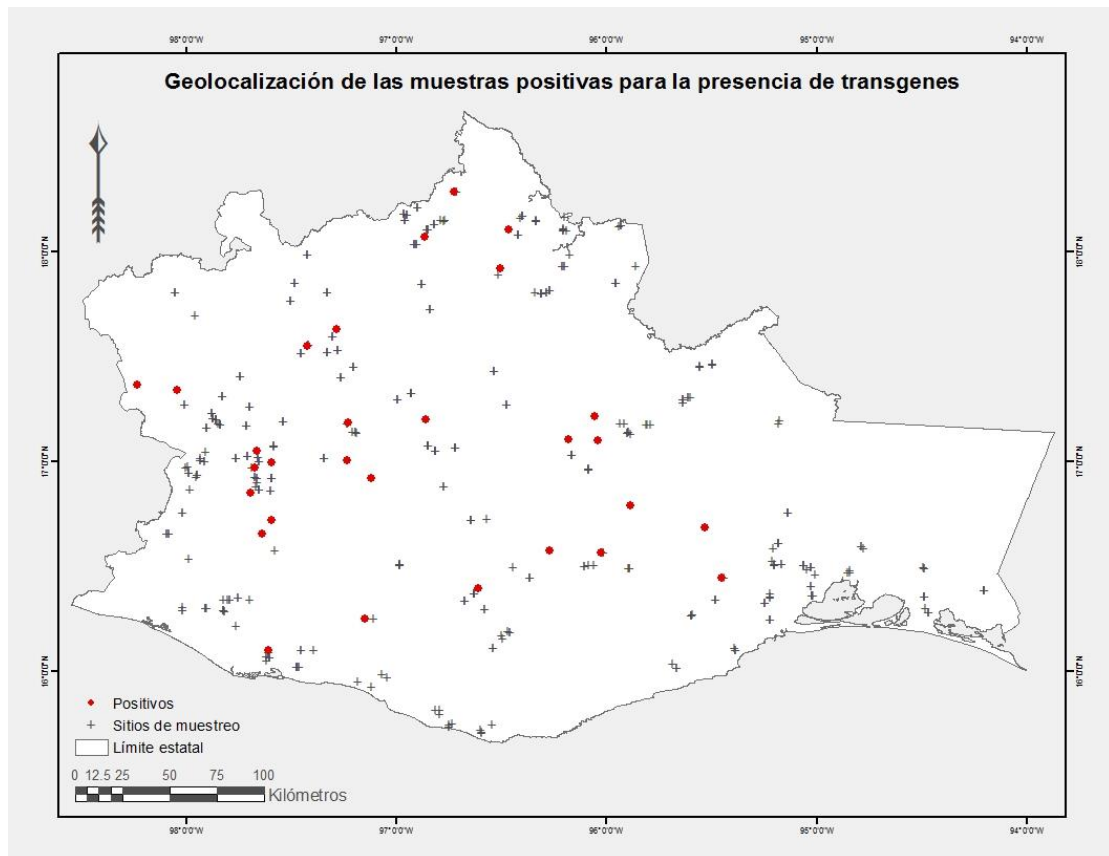


Figura 55. Mapa de la presencia detectada de transgenes en Michoacán

Los análisis moleculares realizados para evaluar la presencia de transgenes en muestras procedentes del estado de Oaxaca arrojaron 41 muestras positivas para al menos una secuencia transgénica. En la Figura 56 se detalla la distribución de frecuencias para los marcadores moleculares y eventos específicos analizados.

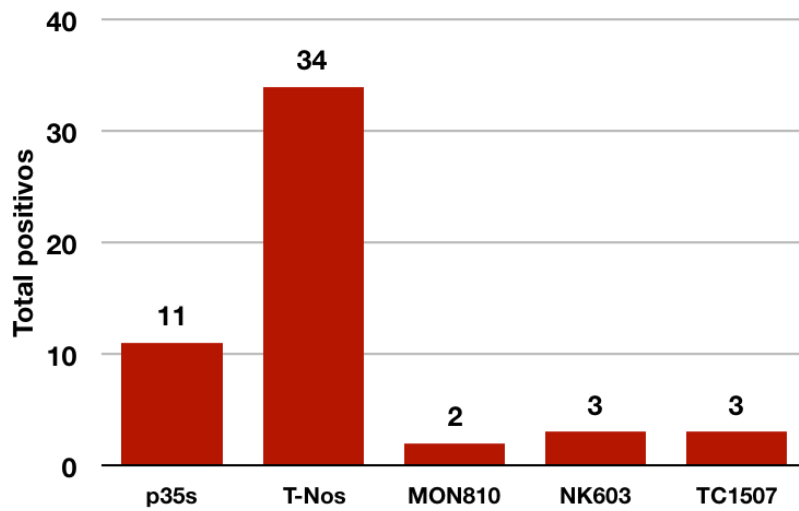


Figura 56. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado para el Estado de Oaxaca

De las muestras positivas para algún marcador de transgénesis, 11 muestras resultaron positivas para el p35S (26.8%); 34 amplificaron el T-Nos (82.9%); 2 para MON810 (4.8%) y 3 cada una para NK603 y TC1507, respectivamente (7.3%).

4.6.5 Veracruz

En la Figura 57 se resumen los resultados globales de presencia/ausencia de transgenes obtenidos para las 88 muestras del estado de Veracruz.

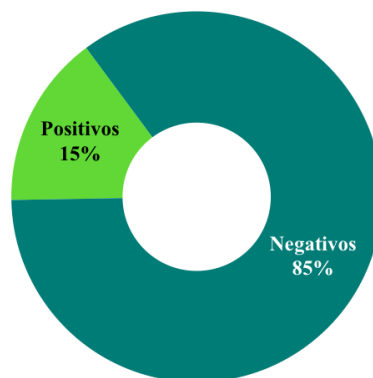


Figura 57. Total de muestras analizadas: 87. Muestras negativas para la presencia de transgenes: 74 (85.1%).
Muestras positivas para la presencia de transgenes: 13 (14.9%)

Los análisis moleculares realizados para evaluar la presencia de transgenes en muestras procedentes del estado de Veracruz arrojaron 13 muestras positivas para al menos una secuencia transgénica. En la Figura 58 se detalla la distribución de frecuencias para los marcadores moleculares y eventos específicos analizados.

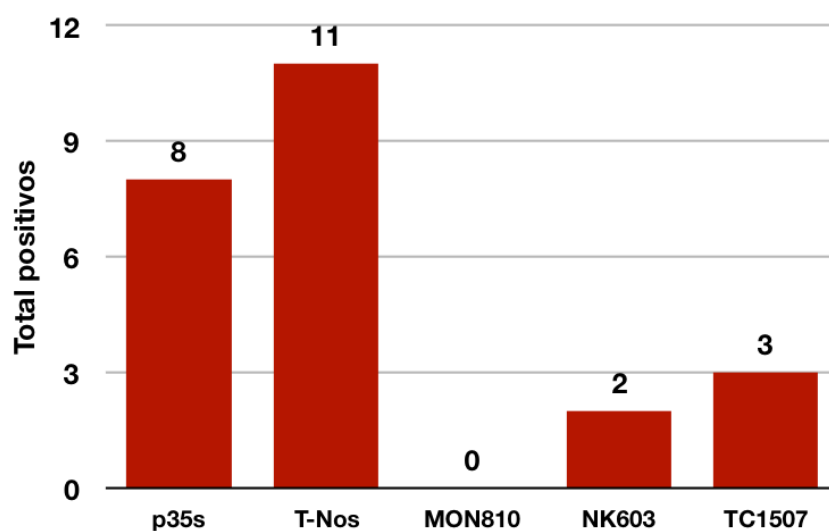


Figura 58. Distribución de muestras positivas por marcador molecular analizado para el Estado de Veracruz

De las 13 muestras positivas para algún marcador molecular, 8 lo son para el p35S (61.5%); 11 amplificaron el T-Nos (84.6%); ninguna muestra amplificó el evento MON810, mientras que 2 muestras amplificaron el evento NK603 (16.6%) y 3 son positivas para el evento TC1507 (25%).

4.6.6 Observaciones sobre los análisis moleculares realizados

Todos los resultados reportados en esta investigación corresponden a muestras que fueron procesadas, extraídas y analizadas por RT-PCR siguiendo los estándares de calidad internacionales (ver secciones 2.1-2.3) y aquellas muestras en donde las tres réplicas técnicas resultaron positivas para el marcador de transgénesis o evento específico analizado. Un resultado inesperado dentro de esta investigación es encontrar un mayor número de muestras que amplificaron el T-Nos en 4 de 5 estados, en lugar del p35S, que es una secuencia que ha sido más utilizada en diferentes eventos transgénicos en maíz comercializados, a pesar de que el T-Nos ha sido reportado en un mayor número de eventos de maíz recopilados en el Biosafety Clearing House (BCH, 2018) (p35S se reporta en 142 eventos vs. T-Nos usado en 157

eventos). La excepción a esta tendencia es Michoacán, donde de las 7 muestras positivas para alguno de los marcadores de transgenes, 6 amplificaron el p35S y 1 el T-Nos.

Se sugiere realizar pruebas adicionales con otros juegos de cebadores/sonda para amplificar el T-Nos para corroborar este resultado. Ahora bien, aún si se ignoraran los resultados para T-Nos, en todos los estados hubo muestras que amplificaron el p35S y en Michoacán, éste fue el marcador más común, al igual que en Oaxaca (34 de las 41 muestras positivas para algún transgen amplificaron el p35S). También se sugiere analizar más eventos comerciales, así como diseñar cebadores específicos para eventos no comerciales sembrados en México en la década de los noventa por instituciones como el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (Bohorova *et al.*, 1999, 2001), con el fin de adquirir un mayor entendimiento de las posibles fuentes de difusión de transgenes a los maíces sembrados en México.

Otra observación interesante es que si bien este trabajo se enfocó en coleccionar maíces nativos, se coleccionaron maíces híbridos que eran parte de los lotes de semilla que manejaban algunos de los agricultores encuestados que donaron semilla. El porcentaje de híbridos coleccionados por estado presentó mucha variación, yendo desde 26% en Michoacán y 22.5% en Chiapas, a 1.2% en la CDMX. En Oaxaca, la semilla híbrida representó 8.8% del total, mientras que en Veracruz fue el 10.2%. El estado donde una mayor fracción de muestras reportadas como híbridas amplificaron uno o más marcadores de transgénesis fue Oaxaca, donde de las 51 muestras positivas, 14 eran reportadas como híbridas por los agricultores participantes. La diferencia en los patrones de distribución de marcadores de transgénesis y eventos analizados aquí, junto con su mayor o menor presencia en lotes de semilla considerada híbrida, debe ser investigada con más detalle y más trabajo de campo.

Aun así, este trabajo establece una línea base geográficamente distribuida y representativa de la presencia y distribución de secuencias transgénicas a nivel de estado en la CDMX, Oaxaca y Chiapas, mientras que es un muestreo representativo a nivel de genética de poblaciones, para Michoacán y Veracruz.

4.7 Nota sobre los recursos para la ejecución del proyecto

Los resultados reportados aquí implicaron múltiples salidas de campo para cada uno de los colaboradores que realizaron el trabajo de campo en cada uno de los estados reportados. Una situación generalizada fue la necesidad de intensificar el trabajo de campo a través de salidas adicionales a las originalmente planeadas, tanto por fenómenos climáticos, como por cuestiones de seguridad.

A su vez, los costos de los reactivos de laboratorio se encarecieron en aproximadamente 20% con respecto a lo originalmente presupuestado por fluctuaciones a la alta de la paridad peso-dólar. Estos dos fenómenos implicaron la utilización de recursos de fuentes concurrentes, como fue el proyecto de Grandes Problemas Nacionales del CONACYT 2015-01-687.

5. Referencias

- Álvarez-Buylla E., Carrillo-Truba C., Olivé-León, Piñeyro-Nelson, A. (2013a). Introducción. In *El maíz en peligro ante los transgénicos*. (pp. 15–24). México, D.F.: UNAM, Unión de Científicos Comprometidos con la Sociedad.
- Bauer-Panskus, Andreas, Hamberger Sylvia, Schumm, Mirjam, Then, C. (2015). *Testbiotech: Escape of genetically engineered organisms and unintentional transboundary movements: Overview of recent and upcoming cases and the new risks form SynBio organisms*. Munich: Testbiotech. Retrieved from www.testbiotech.org
- BCH (2018). Biosafety Clearing House. Disponible en línea en: <http://bch.cbd.int/database/results?searchid=724547> (Consultado el 15 de noviembre de 2018)
- Boege, E., G. Vidriales-Chan, I. García-Coll, M. Mondragón, A. J. Rivas, M. P. Lozada y F. Soto (2008). *El Patrimonio Biocultural de los Pueblos Indígenas de México*. Instituto Nacional de Antropología e Historia, Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. México, D. F. 344 pp.
- Bohorova, N., Zhang, W., Julstrum, P., McLean, S., Luna, B., Brito, R. M., ... & Salgado, M. (1999). Production of transgenic tropical maize with cryIAb and

- cryIac genes via microprojectile bombardment of immature embryos. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(3-4), 437-444.
- Bohorova, N., Frutos, R., Royer, M., Estañol, P., Pacheco, M., Rascon, Q., ... & Hoisington, D. (2001). Novel synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1B gene and the cry1B-cry1Ab translational fusion confer resistance to southwestern corn borer, sugarcane borer and fall armyworm in transgenic tropical maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(6-7), 817-826.
- Casas, A. y J. Caballero (1995). Domesticación de Plantas y Origen de la Agricultura en Mesoamérica. *Revista Ciencias*. 40:36-44.
- COFEPRIS, 2018. Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Secretaría de Salud. Disponible en: <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp> (Consultado el 31 de octubre de 2018).
- CONABIO. 2011a. 'Distribución de maíces nativos y número de razas registradas por celda (1966 - 1990)', escala: 1:250000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. SEMARNAT. México. http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/r_m_per2_gw.xml?http_ache=yes&_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no
- CONABIO. 2011b. Base de datos de maíz. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. SEMARNAT. México <http://www.biodiversidad.gob.mx/genes/genes.html#NULL>
- Dyer, G. A., Serratos-Hernández, J. A., Perales, H. R., Gepts, P., Piñeyro-Nelson, A., Chávez, A., ... Álvarez-Buylla, E. R. (2009). Dispersal of transgenes through maize seed systems in Mexico. *PLoS ONE*, 4(5), e5734. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0005734>
- González-Ortega, E., Piñeyro-Nelson, A., Gómez-Hernández, E., Monterrubio-Vázquez, E., Arleo, M., Dávila-Velderrain, J., ... & Álvarez-Buylla, E. R. (2017). Pervasive presence of transgenes and glyphosate in maize-derived food in Mexico. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 41(9-10), 1146-1161.
- INEGI. 2010. Conjunto Nacional de Uso del Suelo y Vegetación a escala 1:250 000. Serie IV
- ISAAA, 2018. GM Approval Database. Disponible en línea:

<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/advsearch/default.asp?CropID=6&TraitTypeID=Any&DeveloperID=Any&CountryID=Any&ApprovalTypeID=Any>
(Consultado 15/11/2018)

JRC 2018. Joint Research Centre. Disponible en línea http://gmocrl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/entry.do?db=gmometh&query=id%3AQT-eve-zm*&id=qt-eve-zm-023 (Consultado . 15/11/2018)

Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. . M., Serratos, J. A., & Bye, R. A. (2009). *Origen y diversificación del maíz. Origen y diversificación del maíz.* (Primera Ed). México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Pimentel, D., Westra, L., Noss, R. F. (2000). *Ecological integrity: integrating environment, conservation, and health.* Washington: Island Press.

Piñeyro-Nelson, A., Van Heerwaarden, J., Perales, H. R., Serratos-Hernández, J. A., Rangel, A., Hufford, M. B., Álvarez-Buylla, E. R. (2009). Transgenes in Mexican maize: Molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Molecular Ecology*, 18(4), 750–761. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03993.x>

Quist, D., y Chapela, I. H. (2001). Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature*, 414(6863), 541–543. <http://doi.org/10.1038/35107068>

SAGARPA. (2015). Disponibilidad-consumo de maíz blanco y maíz amarillo. En: <http://www.numerosdelcampo.sagarpa.gob.mx/publicnew/productosAgricolas/>

Serna-Saldívar S. R. O. y C. A. Amaya-Guerra. (2008). El papel de la tortilla nixtamalizada en la nutrición y la alimentación. En: Rodríguez-García, M., S. O. Serna-Saldívar y F. Sánchez-Senecio (Eds.), *Nixtamalización del Maíz a la Tortilla. Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos.* Universidad Nacional Autónoma de México.

Serratos-Hernández, J.A., Gómez-Olivares, J.L, Salinas-Arreortua, N. (2007). Transgenic proteins in maize in the Soil Conservation area of Federal District , Mexico. *Frontiers in Ecology*, 5(5), 247–252. [http://doi.org/Doi 10.1890/1540-9295\(2007\)5\[247:Tpimit\]2.0.Co;2](http://doi.org/Doi 10.1890/1540-9295(2007)5[247:Tpimit]2.0.Co;2)

Serratos-Hernández, J. A. (2009). Bioseguridad y dispersión de maíz transgénico en México. *Revista Ciencias.* **92-93**:46-55

- SIAP (2016). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. En: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp
- SIAP (2018). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. En: <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- Trejo Pastor V. (2014). *Tesis: Resistencia a Glifosato En Maíces Nativos De Veracruz E Híbridos Comercializados En México*. Colegio de Postgraduados. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas Campus Montecillo.
- Turrent-Fernández, A., Serratos-Hernández, A., Mejía-Andrade, H., Espinosa-Calderón, A. (2009). Propuesta de cotejo de impacto de la acumulación de transgenes en el maíz nativo mexicano. *Agrociencia*, (43), 257–265.