

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA**

## **DETECCIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS EN TORTILLAS ELABORADAS A PARTIR DE MAÍZ EN EL MUNICIPIO DE CATACAMAS OLANCHO**

POR:

LUIS ALFREDO SALGADO ZELAYA

**DIAGNÓSTICO**

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO  
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE:**

**LICENCIADO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**



**CATACAMAS**

**OLANCHO**

**NOVIEMBRE, 2010**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA**

**DETECCIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS EN  
TORTILLAS ELABORADAS A PARTIR DE MAÍZ EN EL MUNICIPIO DE  
CATACAMAS OLANCHO**

**POR:**

**LUIS ALFREDO SALGADO ZELAYA**

**JORGE ALBERTO CARRASCO  
PhD.**

Asesor Principal UNAH.

**HILSY LOURDES SANABRIA  
M Sc.**

Asesor Principal UNA.

**DIAGNÓSTICO**

**PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA  
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

**CATACAMAS**

**OLANCHO**

**NOVIEMBRE, 2013**

## **ACTA DE SUSTENTACION**

## **DEDICATORIA**

### **A MI DIOS TODO PODEOSO**

Por ser ese inseparable amigo que estuvo conmigo siempre, en las buenas y en las malas, quien me dio la fortaleza, entendimiento y sabiduría para poder culminar esta etapa de mi vida.

### **A MIS PADRES**

Luis Salgado Y Xiomara Zelaya, por haberme dado la vida, creer en mí y apoyarme siempre en cada uno de los pasos que eh dado, por ser esos padres ejemplares que cualquier hijo quiere tener y sobre todo por amarme y ser mi inspiración para seguir en este camino donde hoy culmino una etapa muy importante de mi vida.

### **A MIS HERMANOS**

Raúl Salgado y Rubén Salgado, por ser los mejores hermanos y amigos, por siempre ayudarme, respaldarme y aconsejarme en cada uno de los pasos de mi vida.

### **A TODA MI FAMILIA**

Tíos, primos, abuelas, que desde el comienzo de este sueño estuvieron al pendiente de mí y de mi formación personal y profesional, y de una manera especial a aquellos que ya partieron y no pudieron estar conmigo en este momento tan simbólico en mi vida, siempre los recordare.

## AGRADECIMIENTOS

Al Divino creador del universo, por darme la fuerza, el coraje, valor, sabiduría y entendimiento para poder alcanzar esta meta, que no asido fácil.

A mi alma Mater: **UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA (UNA)**, por haberme brindado una oportunidad para poder formarme como profesional en el campo de La Ciencia y Tecnología Alimentaria, eternamente agradecido por estos 4 años de enseñanza recibidos, a mis catedráticos por cada uno de los valores y enseñanzas que recibí de ellos y a todos aquellos que aportaron en el camino de mi formación profesional, el cual hoy culmino.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE HONDURAS (UNAH)** por haberme permitido realizar mi investigación de tesis en su campus universitario y por todo el apoyo brindado durante la realización de este proyecto.

Al **Ph.D. Jorge Alberto Carrasco**, tutor y asesor externo de la investigación, por haberme abierto las puertas del laboratorio en el cual se llevó a cabo el estudio de investigación, por compartir su conocimiento, por su interés en el estudio realizado, su paciencia, consejos y todos los aportes que brindo para la realización de este trabajo, sin usted no hubiera sido posible.

A la **Dra. Jennifer Izamar Yamali Maradiaga Giménez** y la **Dra. Aleyda Isabel Velázquez Del Cid**, por su paciencia, consejos, apoyo y amistad la cual fue crucial para el desarrollo de esta investigación.

A mis asesores internos: **Msc Hilsy Lourdes Sanabria Ortega, Msc. Héctor Díaz, Msc. Carlos Inestroza Lizardo**, por acompañarme en esta investigación y compartir conmigo sus conocimientos, y por todo el apoyo que recibí de ellos cuando los necesité.

A mis inolvidables hermanos y compañeros: Skarleth Turcios, Hugo Martínez, Francisco Sánchez, Fernando Díaz, Blanca Moradel y Zoe Vázquez, por ser los mejores compañeros y hermanos de estudio y trabajo que pude haber tenido en estos 4 inolvidables años de mi vida, por todos los momentos buenos y malos que vivimos juntos como grupo, eternamente agradecido.

A mis compañeros del grupo juvenil San Juan Bosco, por su apoyo e los momentos que los necesite, por esa amistad pura y sincera que eh recibido de cada uno de ustedes y que me anima a seguir adelante.

A Bu, por ser esa verdadera amiga que ha estado presente en muchas circunstancias de mi vida, dándome ánimos y ayudándome principalmente durante la realización de este trabajo, por creer en mí y compartir conmigo esta experiencia, gracias por tu valiosa amistad.

# CONTENIDO

	pág.
<b>ACTA DE SUSTENTACION</b> .....	i
<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>ABREVIATURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE IMAGENES</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	x
<b>I. INTRODUCCION</b> .....	1
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	3
<b>2.1. Objetivo general</b> .....	3
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	3
<b>III. MARCO TEORICO</b> .....	4
<b>3.1. Orígenes del Maíz</b> .....	4
<b>3.2. Generalidades</b> .....	4
<b>3.3. Composición Nutritiva.</b> .....	5
<b>3.4. La Tortilla</b> .....	5
<b>3.5. Nixtamalización</b> .....	6
<b>3.6. Biotecnología, Mejoramiento Genético Vegetal, Ingeniería Genética</b> .....	7
<b>3.7. Organismos genéticamente modificados (OGM) y alimentos transgénicos.</b> .....	10
<b>3.8. Actores y herramientas de la ingeniería genética</b> .....	11
<b>3.8.1. Los organismos</b> .....	11
<b>3.8.2. Los genes, promotores, terminadores, vectores y construcciones genéticas</b> .....	11
<b>3.8.3. Sistemas de transformación</b> .....	13
<b>3.9. Técnicas de detección de OGM</b> .....	14
<b>3.9.1. Pruebas inmunoserológicas</b> .....	15
<b>3.9.2. Pruebas moleculares.</b> .....	16
<b>3.10. Virus del mosaico de la coliflor.</b> .....	18
<b>3.11. Proteína Cry 1F</b> .....	18

<b>IV. METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Ubicación .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1.1. Recolección de muestras y aplicación de encuestas .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2. Análisis de las muestras.....</b>	<b>21</b>
<b>4.2.1. Estudio molecular .....</b>	<b>22</b>
<b>4.2.2. Estudio inmunoserológico ELISA. ....</b>	<b>24</b>
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSION .....</b>	<b>26</b>
<b>5.1. Análisis de resultados .....</b>	<b>26</b>
<b>5.1.1. Presencia de OGM en muestras de tortillas de maíz .....</b>	<b>26</b>
<b>5.1.2. Resultados positivos para PCR del promotor pCAMv .....</b>	<b>27</b>
<b>5.1.3. Resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1.4. Relación de muestras positivas .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1.5. Resultados de la encuesta. ....</b>	<b>35</b>
<b>5.2. Muestras negativas .....</b>	<b>35</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>29</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>30</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍAS.....</b>	<b>31</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>36</b>

## ABREVIATURAS

ADN	Acido Desoxirribonucleico.
ADN ss	Acido Desoxirribonucleico de cadena sencilla.
ADN ds	Acido Desoxirribonucleico de cadena doble.
AN	Ácido Nucleico.
ARN	Ácido Ribonucleico.
CaMV	Virus del mosaico de la coliflor.
CTAB	Bromuro de cetil-trimetil amonio.
ELISA	Enzyme Linked Immune Sorbent Assay.
GM	Genéticamente Modificados.
KPB	Kilo pares de bases.
OD	Densidad Óptica
OGM	Organismo Genéticamente Modificado.
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa.
pCAMv	Promotor del virus del mosaico de la coliflor.
RR	Ramdon Ready.
RTPCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real.

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla No. 1</b> Construcciones genéticas de los cultivos liberados en Honduras .....	pág. 13
<b>Tabla No. 2</b> Asignación de código a las muestras.....	20
<b>Tabla No. 3</b> preparación de las muestras para la amplificación del promotor pCAMv.....	23
<b>Tabla No. 4</b> Condiciones del termociclador para la PCR.....	23
<b>Tabla No. 5</b> Lugares de la zona rural positivas en PCR.....	28
<b>Tabla No. 6</b> Lugares de la zona rural positivas para ELISA.....	29
<b>Tabla No. 7</b> Muestras positivas mediante PCR en la zona Urbana.....	31
<b>Tabla No. 8</b> muestras y lugares positivos mediante ELISA en la zona Urbana.....	32
<b>Tabla No. 9</b> Relación de las muestras positivas en ambas técnicas .....	34

## LISTA DE IMAGENES

<b>Figura 1.</b> Mapa de la zona Rural estudiada, muestras del 1 a hasta la 25 a .....	pág. 21
<b>Figura 2.</b> Mapa de la Zona Urbana estudiada, muestras de la 1 b hasta la 25 b .....	21
<b>Figura 3.</b> Muestras Positivas para PCR zona rural .....	27
<b>Figura 4.</b> Mapa de lugares positivos para OGM en tortillas mediante PCR .....	28
<b>Figura 5.</b> Mapa de lugares positivos para OGM mediante ELISA .....	29
<b>Figura 6.</b> Muestras positivas en PCR para la zona urbana .....	30
<b>Figura 7.</b> Muestras positivas en PCR para la zona urbana .....	30
<b>Figura. 8.</b> Mapa de lugares con muestras positivas mediante PCR zona urbana .....	32
<b>Figura 9.</b> Mapa de lugares con muestras positivas mediante ELISA zona urbana .....	33

**Salgado Zelaya, L.A. 2013.** Estudio piloto para la detección de organismos genéticamente modificados en productos elaborados a partir de Maíz en el municipio de Catacamas Olancho. Tesis Lic. Tecnología. Alimentaria. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas Olancho, Honduras, C.A. 48 Pág.

## **RESUMEN**

La presente investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio de Inmunología de la Escuela de Microbiología de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Se evaluaron cincuenta muestras de tortillas de maíz (*Zea maíz*) procedentes del municipio de Catacamas Olancho. Las muestras fueron recolectadas en la zona urbana del municipio como en la zona rural, para determinar si hay presencia de organismos genéticamente modificados (OGM) en las tortillas que actualmente se están consumiendo en todo el municipio. Para determinar la presencia de OGM en las muestras, se llevaron a cabo dos pruebas de detección; la primera de ellas consiste en el análisis del material genético (ADN) de las tortillas donde se buscó el promotor pCAMv (Virus del mosaico de la coliflor), esto haciendo uso de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La segunda prueba de detección que se utilizó fue mediante el análisis de proteínas con el diagnóstico de la prueba de *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). En esta técnica lo que se buscó fue la presencia de la proteína Cry 1F en las tortillas de maíz. Los resultados obtenidos en ambas fueron 31 muestras positivas de las 50 que fueron evaluadas, donde 19 de ellas fueron detectadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa o PCR y 8 de ellas en el análisis con la prueba de ELISA teniendo 5 muestras positivas en común entre ambos análisis. De las 27 muestras positivas, se observó que; 15 de ellas provenían de la zona rural y que las 12 restantes pertenecían a la zona urbana, donde hay una mayor presencia de tortillas positivas para OGM.

**Palabras claves:** Transgénicos, PCR, ELISA, pCAMv, Cry 1F, organismos modificados genéticamente.

## I. INTRODUCCION

La ingeniería genética, llamada también metodología del DNA recombinante, es un conjunto de herramientas y métodos que permiten la manipulación *in vitro* del material genético de los organismos vivos (Bolívar, 2007) presentándose como una poderosa alternativa para obtener cultivos transgénicos que superen en su productividad y calidad a sus contrapartes obtenidas por métodos tradicionales (Herrera y Martínez 2007).

Los cultivos transgénicos aumentan en todo el mundo año tras año. Desde el inicio de su comercialización en 1996, ya han superado los mil millones de hectáreas cultivadas en 29 diferentes países del planeta. Julio Ferrarotti, destacado genetista argentino, informó que en el 2010 se sembraron 148 millones de hectáreas con cultivos biotecnológicos en el mundo, guarismo que representa un incremento del 10 por ciento frente a las hectáreas sembradas en 2009. "Tales cultivos incluyen importantes fuentes alimentarias, como el maíz, el arroz, el trigo y la soja y son solo una parte del total, que se complementa con algodón, canola y hortalizas entre otros" (Agro noticias de América Latina y el Caribe, FAO, 2011).

Honduras es el único país en América Central y uno de los cinco países en Latinoamérica que permite el campo experimentando y la producción comercial de cultivos de genética combinatoria. En la actualidad, BT (MON810), Ramdon Ready (RR) (NK603), Herculex (TC 1507) y VTPRO (MON 89034) están siendo comercialmente producidos en este país (USDA, 2011).

El consejo para las ciencias agrícolas y la tecnología (CAST) (2005) comenta que; La ciencia no tiene una postura específica diciendo que los cultivos genéticamente

modificados (GM) son seguros o inseguros; cada cultivo GM presenta riesgos y beneficios potenciales que deben ser evaluados en base a cada caso, es por esto que según Herbert (2006) gran parte de la controversia sobre los alimentos genéticamente modificados gira en torno de hasta qué punto son un riesgo y si vale la pena correrlo.

La modificación genética de organismos es un tema que involucra la salud y el medio ambiente a nivel mundial. Este tema ha creado una división radical de opiniones entre aquellos que creen que esta nueva tecnología mejorara considerablemente nuestras vidas y aquellos que temen en el rápido avance científico (Wagner 2000).

La detección de residuos de organismos genéticamente modificados (OGM) en alimentos se ha convertido en un tema de gran actualidad por el incremento del número de productos derivados de OGM que han sido lanzados al mercado y el aumento de demandas por parte de los consumidores para que se establezcan regulaciones más estrictas en el etiquetado de estos productos (Cruz 2007).

Si bien es cierto que los alimentos transgénicos han sido de mucha controversia a nivel mundial en cuanto a su consumo, no podemos decir que nuestro país está exento de esta realidad, es por eso que la finalidad de esta investigación no es más que la de determinar la presencia de organismos genéticamente modificados en productos terminados a base de maíz que actualmente se está consumiendo en la dieta cotidiana de los pobladores de la región de Catacamas Olancho.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Determinar la presencia de organismos genéticamente modificados en productos terminados (Tortillas) elaborados a base de maíz que se consumen actualmente en el municipio de Catacamas.

### **2.2. Objetivos específicos**

Detectar la presencia o ausencia del promotor pCAMv muestras de tortillas elaboradas a base de maíz procedentes de 25 barrios y 25 localidades de la zona rural.

Detectar la presencia o ausencia de la proteína Cry 1F en muestras de tortillas elaboradas a base de maíz procedentes de 25 barrios y 25 localidades de la zona rural.

Cuantificar la presencia de maíz OGM en las tortillas procedentes del municipio de Catacamas, Olancho.

### **III. MARCO TEORICO**

#### **3.1. Orígenes del Maíz**

Serratos (2012) menciona que el origen del maíz no ha sido sencillo de rastrear. La mazorca es única entre los cereales y de ahí que la dilucidación de su origen haya sido un gran desafío científico. Estudios taxonómicos y botánicos realizados a finales del siglo XIX y principios del XX recapitulan la relación y posible evolución del teocinte al maíz, cuyos vestigios más antiguos fueron encontrados desde México hasta la mitad del territorio Centroamericano.

Según Silva (2005) El origen del maíz (*Zea mays*) ha sido objeto de numerosos trabajos, con base en los cuales se han sugerido varios sitios de origen que van desde Paraguay en Sur América hasta Guatemala y México en Mesoamérica.

#### **3.2. Generalidades**

El maíz es un cultivo que necesita suelos estructurados, fértiles y profundos que permitan el desarrollo de las raíces, que eviten los encharcamientos siendo al mismo tiempo capaces de almacenar agua, y que permitan un aprovechamiento óptimo de los nutrientes (Ortas 2008).

Según Staackman y Matz (1987) las principales variedades de maíz son; maíz de vaina, maíz dura, maíz dentado, maíz dulce, maíz palomero, maíz harinoso y el maíz ceroso.

Silva (2005) comenta que el maíz es el cereal más ampliamente distribuido a nivel mundial y ocupa la tercera posición en cuanto a producción total, detrás del arroz y del trigo. Su cultivo se realiza desde el ecuador hasta los 50° de latitud norte o latitud sur y desde el nivel del mar hasta más de 3000 metros de altitud, en climas cálidos y fríos y con ciclos vegetativos con rangos entre 3 y 13 meses Ningún otro cereal tiene un uso tan variado; casi todas las partes de la planta de maíz tienen valor económico.

### **3.3. Composición Nutritiva**

La composición química del grano de maíz, y por ende su valor nutritivo, dependen del genotipo de la variedad, el ambiente y las condiciones de siembra. En promedio, el contenido de proteína del maíz es de 10% y una buena parte se encuentra en el germen del grano, la calidad nutritiva del maíz está definida en buena medida por la calidad de sus proteínas y ésta, a su vez, la establece el contenido de los llamados aminoácidos esenciales(Paredes *et. al.* 2008).

Según Gear (2006) El grano de maíz tradicional está compuesto por un 70 a 75% de almidón, 8 a 10% de proteína y 4 a 5% de aceite, contenidos en tres estructuras: el germen (embrión), el endospermo y el pericarpio. El germen constituye el 10 al 12% del peso seco y contiene el 83% de los lípidos y el 26% de la proteína del grano.

### **3.4. La Tortilla**

Su origen se remonta a las civilizaciones precolombinas de Mesoamérica que usaban el maíz como su alimento. El procedimiento para su elaboración es el mismo de los antepasados prehispánicos. A partir del nixtamal, que consiste en cocer el grano de maíz en agua hirviendo con una base de cal, así se consigue la suavidad, el aroma y el sabor que todos buscamos en la tortilla. Contribuye a gran parte de la energía diaria que necesitamos por su alto contenido de hidratos de carbono; además, es rica en calcio, fibra y potasio, y baja en grasa y sodio. Se considera que de los requerimientos nutricionales diarios, la

tortilla provee aproximadamente 45% de las calorías, 39% de las proteínas y 49% del calcio; incluso en algunas zonas rurales proporciona aproximadamente 70% de las calorías y 50% del consumo proteico diario (FECAEXCA s. f.).

Paredes et al. (2008) comenta que el maíz nixtamalizado es molido para producir la masa que se utiliza para formar a mano discos que luego son cocidos en un comal de barro. Es importante indicar que el proceso de molienda requiere la adición de agua y que la masa llega a tener de 48 a 55% de humedad. Finalmente el disco de masa, de aproximadamente 20 centímetros de diámetro, se cuece permitiendo que un lado de la tortilla esté en contacto con el calor de 30 a 45 segundos, se voltea para cocer el otro lado durante un minuto y otra vez el lado inicial por otros 30 segundos para completar la cocción. El producto resultante era llamado en nahuatl *tlaxcalli* y fue nombrado tortilla por los españoles.

### **3.5. Nixtamalización**

No se sabe a ciencia cierta en qué momento surgió el ingenioso proceso que dio origen al nixtamal, lo cierto es que sin él sería prácticamente imposible que la masa adquiriera su consistencia y elasticidad (Amador 2005). En la nixtamalización la cocción alcalina y el remojo provocan la disolución y el hinchamiento de las capas del pericarpio, esto hace que las paredes celulares y los componentes de la fibra dietaria de esta parte del grano se vuelvan frágiles, facilitando su remoción, lo cual obviamente disminuye el contenido de fibra dietaria insoluble. Sin embargo, y por fortuna, en este proceso la fibra dietaria soluble pasa de 0.9% en el maíz a 1.3% en la masa, y a 1.7% en la tortilla (Paredes *et al.* 2008).

Ramírez (2011) comenta que la Nixtamalización es un proceso muy antiguo desarrollado por las culturas Mesoamericanas y aún es utilizado para la producción de tortillas. La Nixtamalización produce cambios que mejoran la calidad nutricional del maíz. De acuerdo a la NOM-147-SSA1-1996, se denomina Maíz nixtamalizado o nixtamal, al maíz sano y limpio que ha sido sometido a cocción parcial con agua en presencia de hidróxido de calcio (cal).

### **3.6. Biotecnología, Mejoramiento Genético Vegetal, Ingeniería Genética**

La Food and Agriculture Organizations of the United Nations (FAO) (2009) comenta que la biotecnología se define en términos generales como la aplicación de los principios científicos y de ingeniería para el procesamiento de sustancias por parte de agentes biológicos para proveer bienes y servicios. En esta definición, los agentes biológicos son principalmente microorganismos, células vegetales y animales y enzimas. Las sustancias mencionadas son materiales renovables, así como los producidos por los agentes biológicos. Los bienes y servicios son productos de las industrias relacionadas con alimentos, bebidas, productos farmacéuticos y biomédico.

La biotecnología abarca una amplia gama de tecnologías que puede aplicarse a una serie de finalidades diferentes, tales como el mejoramiento genético de variedades vegetales y poblaciones animales, para aumentar sus rendimientos o eficacia; la caracterización genética y la conservación de los recursos genéticos; el diagnóstico de las enfermedades vegetales y animales; la preparación de vacunas y la mejora de piensos. Algunas de esas tecnologías pueden aplicarse a todos los sectores alimentarios y agrícolas (Sonnino 2009).

Bisang (2009) comenta que en el plano agrícola, el uso de las leyes de Mendel permitió contar con una guía (basada en el entrecruzamiento y la ley de los grandes números) para mejorar los procesos de selección, siempre entre intra-especies. Ello dio lugar a la mejora sustantiva, principalmente en el fitomejoramiento de las semillas y, en menor medida, en los registros de genética bovina. Otro paso en dicha dirección fue el entrecruzamiento “manual” entre especies compatibles, dando lugar a los fenómenos conocidos como hibridación. Su resultado fue la clave del uso masivo de las semillas híbridas (junto con la mecanización y los agroquímicos) como eje central de la denominada revolución verde de los años cincuenta y sesenta.

A partir de ese período se entró en una nueva era de la agricultura, de la mano de las nuevas biotecnologías, con un papel central la genética molecular. Ello se ha debido a un auge

espectacular de los conocimientos básicos de biología vegetal y la aplicación de las técnicas de Ingeniería Genética (Iáñez, 1997).

Los avances de la Biología en los últimos años han sido espectaculares. El siglo XX ha sido particularmente fructífero en logros que se refieren al conocimiento del funcionamiento de los seres vivos (animales o microorganismos) en sus hábitats naturales pero, sobre todo, ha quedado claro que todos los seres vivos tienen en común un tipo de macromoléculas orgánicas denominadas ácidos nucleicos (ácido desoxirribonucleico - ADN- y ácido ribonucleico-ARN-) que constituyen el elemento central, la unidad molecular de la Biología (Rodríguez *et. al* 2003).

Corona (2006) comenta que en las últimas tres décadas, los investigadores han descubierto que el ADN puede ser modificado o intercambiable entre plantas, animales, bacterias y otros organismos. La llamada tecnología del ADN recombinante permite combinar fragmentos de la molécula de ADN de dos o más fuentes diferentes o de regiones diferentes del genoma.

Rodríguez *et. al* (2003) también menciona que desde entonces, la disponibilidad de herramientas biológicas (cada vez en mayor número y cada vez con mayores utilidades) ha permitido avances que han dado lugar a una nueva rama de la Ciencia Biológica denominada Ingeniería Genética o Tecnología del ADN recombinante.

El ADN recombinante es una secuencia nueva del ADN, creada por la unión en el laboratorio de porciones de ADN con orígenes diferentes (Riechmann 2004).

Según Sánchez (2003) la ingeniería genética es una disciplina de la Biología, con los mismos objetivos del fitomejoramiento clásico pero con la ventaja de que permite combinar exclusivamente los genes deseados. Además es una tecnología de inspección y transferencia de ADN de un organismo a otro, lo que nos da una visión de crear nuevas

especies, la corrección de defectos genéticos y posibles fabricaciones de organismos (Toro 2013).

Según Ridner (2008) la modificación genética de las plantas persigue tres objetivos principales:

La mejora de rasgos agronómicos, como ciertas características morfológicas (tamaño del grano, altura de la planta, etc.), resistencia a plagas y enfermedades (virus, insectos, hongos, etc.) y tolerancia a herbicidas o a condiciones ambientales adversas (salinidad, heladas, sequía, etc.). Son ejemplos de estas mejoras los cultivos que actualmente se comercializan en el mundo: soja tolerante a herbicida, maíz y algodón resistentes a insectos, papaya resistente a virus, etc.

La modificación en la composición de los cultivos, para generar alimentos más sanos y nutritivos, o productos más aptos para determinadas aplicaciones industriales. Son ejemplos el desarrollo del arroz con alto contenido en vitamina A, frutas con maduración retardada, maní hipo alergénico, papa con mayor contenido proteico y soja con una composición modificada de ácidos grasos.

El empleo de las plantas como fábricas de moléculas de interés industrial, como medicamentos, vacunas, biopolímeros, etc. En este grupo se incluyen también otras aplicaciones no-alimenticias de los cultivos transgénicos, como la fitorremediación.

Según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) (2003) en el maíz, a nivel comercial, la introducción del ADN extraño se ha logrado con éxito a través de una técnica conocida como biobalística. En la actualidad hay dos tipos de maíz transgénico liberado comercialmente producido por medio de ingeniería genética: 1) el maíz de insectos plaga resistentes o maíz *Bt* (*Bacillus thuringiensis*), y 2) el maíz tolerante a herbicidas. Sin embargo, más investigación y desarrollo en esta área está en marcha. El maíz transgénico con elevada (10 KD) zeína y metionina ha sido obtenido. Proteínas anti

fúngicas, tales como quitinasas y beta-1,3-glucanasas, han sido diseñados genéticamente para intentar expresión en la granos de maíz con el objetivo de prevenir el crecimiento de *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas. El maíz transgénico servirá como biorreactores para la producción de diversas biomoléculas con aplicaciones en alimentos, piensos y en la industria farmacéutica (OECD, 2006).

### **3.7. Organismos genéticamente modificados (OGM) y alimentos transgénicos**

Los OGM son organismos (plantas, animales, microorganismos etc.) cuya estructura genética ha sido modificada, casi siempre por la adición de uno o dos genes de otras especies, con el propósito de mejorar alguna de sus características (Lisker 2000).

A finales del siglo pasado comenzó la adopción, desde entonces siempre creciente, de OGM, primero con aplicaciones en la producción de fármacos en contención (ej. insulina humana), y poco después en la agricultura y en otras actividades productivas (Akio *et al.* 2011).

Según Riechmann (2004) los alimentos transgénicos, en dos palabras, son aquellos que contienen organismos transgénicos –Microorganismos, plantas o animales transgénicos – o han sido producidos a partir de estos. De manera más precisa, los alimentos obtenidos por manipulación genética son: (A) los organismos que se pueden utilizar y que han sido sometidos a ingeniería genética (por ejemplo, plantas manipuladas genéticamente que se cosechan). (B) Alimentos que contiene un ingrediente o aditivo derivado de un organismo sometido a ingeniería genética, o (C) alimentos que se han producido utilizando un producto auxiliar para el procesamiento (por ejemplo, enzimas) creado mediante la ingeniería genética.

Hasta el año 2001 se habían realizado 7.676 solicitudes para liberar cultivos genéticamente modificados, de las cuales, 3.327 se relacionan con el maíz, 601 con la soya, 481 con el algodón y 209 con el trigo.

El maíz es el alimento básico para la población en muchos países de América Latina y el ingrediente de la dieta de estas personas. Todas las partes de la planta de maíz son utilizadas, el grano se convierte en masa para hacer tortillas. En general, hay muchos usos específicos de las plantas de maíz en función de la región. 21% de las producciones totales de cereales se consume como alimento (OECD, 2006).

### **3.8. Actores y herramientas de la ingeniería genética**

#### **3.8.1. Los organismos**

Hoy en día se puede afirmar que todos los seres vivos, desde los virus a los animales superiores pasando por las bacterias y las plantas, son susceptibles de modificación mediante Ingeniería Genética aunque no todos se utilizan con igual profusión en la industria (García s.f.).

#### **3.8.2. Los genes, promotores, terminadores, vectores y construcciones genéticas**

##### **a) Genes**

Según la sociedad española de biotecnología (SEBIOT) (2003), un gen es el que contiene la información necesaria para que se manifieste una característica heredable de un ser vivo. En términos de su estructura, un gen es un fragmento de una larga molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico) que almacena información para fabricar una determinada proteína. Esta proteína es la que a su vez determina una propiedad o carácter del organismo, como por ejemplo el color de la piel, la presencia de semilla o la resistencia a una enfermedad.

## **b) Promotores, terminadores y vectores**

Según los investigadores De Robertis y Hib (2004) El promotor es quien inicia la transcripción del ADN y señala a partir de que nucleótido debe transcribirse el gen. Suele localizarse cerca del extremo 5' del segmento codificador, donde comienza la síntesis del ARN. Y en el caso de los terminadores comenta que: en las cercanías del extremo 3' del segmento codificador, el gen posee un tramo de ADN denominado Secuencia de terminación la cual marca la conclusión de la síntesis del ADN.

Rodríguez *et al* (2003) nos explica que un vector suele ser habitualmente un plásmido, es decir, un fragmento de ADN no cromosómico (Por tanto libre en el citoplasma), dotado de capacidad de replicación autónoma, que suelen ser habituales en el genoma de muchas bacterias. Algunos de estos plásmidos llevan genes que codifican para caracteres de mucho interés. Sin embargo Mussin (2006) comenta que hay tres tipos principales de vectores: los plásmidos, los bacteriófagos y los cósmidos.

## **c) Construcciones Genéticas**

Según el Centro de intercambio de información sobre seguridad de la biotecnología (CIIBS), los eventos que ya están aprobados y están siendo comercializados actualmente en Honduras contienen en sus estructuras genéticas el promotor CaMV y dos de ellos contienen la proteína Cry 1F (ver tabla No. 1).

**Tabla No. 1** Construcciones genéticas de los eventos liberados en Honduras

<b>Evento</b>	<b>Promotor</b>	<b>Gen de Interés</b>	<b>Terminador</b>
<b>Mon 810</b>	pCaMv 35s	Cry1AB	Nopalina sintasa (NOS)
<b>Hércules TC 1507</b>	Ubiquitin gene promotor	Cry 1F	ORF25 polyadenilacion
	pCaMV 35s	Phosphinothricin N-acetyltransferasa	CaMV 35S
<b>NK 603</b>	Rice actin 1	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate zynthase	Nopalina sintasa (NOS)
	pCaMV 35s	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate zynthase	Nopalina sintasa (NOS)
<b>VT PRO</b>	pCaMV 35s	Cry1A.105	Terminator of the wheat heat shock protein 17.3
	FMV 35S	Cry2Ab2	Nopalina sintasa (NOS)
	Ubiquitin	Cry1F	ORF25 PolyA
	CaMV 35S	Phosphinothricin N-acetyltransferase gene	CaMV 35S
	Rice actin 1	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase	Nopalina sintasa (NOS)
	CaMV Enhanced 35S	Cry3Bb1	Terminator of the wheat heat shock protein 17.3
	Ubiquitin	Cry34Ab1	Proteinase inhibitor II
	Peroxidase	Cry35Ab1	Proteinase inhibitor II

### 3.8.3. Sistemas de transformación

#### a) Introducción de genes mediada por *agrobacterium*

La *Agrobacterium tumefaciens* es una bacteria del suelo gram-negativa, que causa la enfermedad llamada "Agalla de la corona" en la mayoría de las plantas dicotiledóneas y en algunas monocotiledóneas: la bacteria infecta la planta en el sitio de una herida. Las

células de la agalla de la corona tiene dos características principales: 1) Producen sustancias denominadas opinas que no están presentes en las células normales y 2) pueden proliferar en un medio de cultivo sin necesidad de hormonas de crecimiento (Calderón et al s.f.).

*Agrobacterium tumefaciens* es una notable especie de bacterias que viven en el suelo y tienen la capacidad de infectar las células de las plantas con un fragmento de su ADN. Cuando el ADN bacteriano se integra en un cromosoma de la planta, se apodera efectivamente de la maquinaria celular de esta y la usa para asegurar la proliferación de la población bacteriana (Fenwick citado por Jiménez 2003).

#### **b) Biobalística**

Jiménez (2003) comenta que también se puede introducir el ADN en las células por bombardeo con micro proyectiles (biobalística). Gracias al acelerador de partículas la biobalística con su bombardeo de micro partículas cubiertas de ADN introduce en células vegetales los genes deseados. Para ello se utilizan micro proyectiles de oro o tungsteno (inertes químicamente) disparados a velocidad supersónica atraviesan la membrana sin causar daños a la célula.

### **3.9. Técnicas de detección de OGM**

La detección de residuos de organismos genéticamente modificados (OGM) en alimentos se ha convertido en un tema de gran actualidad por el incremento del número de productos derivados de OGM que han sido lanzados al mercado y el aumento de demandas por parte de los consumidores para que se establezcan regulaciones más estrictas en el etiquetado de estos productos (Cruz 2007).

Según Jiménez (2003) una variedad genéticamente modificada puede distinguirse de su contraparte convencional mediante pruebas que detecten a las nuevas proteínas (pruebas basadas en proteínas) determinadas por el ADN introducido, o mediante la identificación del ADN introducido en sí (pruebas basadas en el ADN).

Yáñez (2004) comenta que en la actualidad existen al menos tres tecnologías (continuamente en evolución) adecuadas para llevar a cabo análisis de OGM, estas son:

- a) Pruebas Inmunoserológicas.
- b) Pruebas Moleculares.

### **3.9.1. Pruebas inmunoserológicas**

#### **A) Método ELISA (*Enzyme Linked Immune Sorbent Assay*)**

Según Jiménez (2003) esta técnica ha sido ampliamente aceptada y usada en varios análisis como la detección de patógenos y mico toxinas. En la prueba ELISA para productos modificados genéticamente la proteína nueva que es codificada por el gen insertado, es aislada y los anticuerpos son acoplados a estructuras específicas de su superficie. Sí la proteína está presente, estos reaccionan con los anticuerpos blanco resultando en un cambio de color.

Básicamente, esta prueba es una reacción antígeno-anticuerpo que se lleva a cabo en una fase sólida. El antígeno-anticuerpo reacciona y produce un complejo estable que puede ser visualizado por la adición de un segundo anticuerpo unido a una enzima. La adición de un sustrato que reacciona con la enzima resulta en una formación de color, la cual puede ser medida fotométricamente. Así se compara el color de las muestras con los de un estándar determinando, el rango de la concentración en la muestra (Maldonado 2007).

## **B) Dispositivos laterales de flujo y las tiras de papel indicador**

Este procedimiento representa una alternativa a la técnica de ELISA. La Banda de Flujo Lateral utiliza una combinación del anticuerpo específico para la proteína de interés (llamado anticuerpo de captura) con un anticuerpo conjugado que es capaz de generar una reacción colorimétrica (llamado anticuerpo de detección), el cual permite visualizar la presencia de la proteína deseada en la muestra analizada (Jiménez, 2003).

### **3.9.2. Pruebas moleculares.**

#### **A) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

La reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction o PCR) es una técnica que ha revolucionado el trabajo en Biología Molecular. Fue desarrollada a mediados de los años ochenta por Kary Mullis, quien obtuvo por ello el Premio Nobel. Junto con los métodos de secuenciación rápida de los ácidos nucleicos, ha impulsado enormemente el avance de la investigación y las aplicaciones de la moderna Biotecnología (Terron 2008).

Según Núñez (2011) el método de la PCR se basa en la propiedad natural de la enzima polimerasa del ADN de replicar hebras de un ADN molde. Este proceso se logra de manera artificial en un aparato conocido como “termociclador” mediante la aplicación de ciclos alternantes de altas y bajas temperaturas que permiten desnaturalizar y renaturalizar, respectivamente, las hebras de ADN recién formadas. Este ciclo se repite varias veces (por lo general 30 en la mayoría de los protocolos) hasta obtener las cantidades deseadas del ADN molde.

La Sociedad Española de Biotecnología (SEBIOT) (2003) comenta que el ADN posee dos cadenas complementarias que llevan la misma información y para copiarlo es necesario separar físicamente las dos cadenas y utilizar cada una de ellas como molde (plantilla que

sirve de modelo a modo de espejo) para sintetizar la otra. Dicha operación la realiza una enzima llamada ADN polimerasa, que en este caso es termorresistente para soportar las elevadas temperaturas que se emplean en la etapa de separación de las dos cadenas de ADN en cada ciclo de copiado.

Según Terrón (2008) pueden señalar como características del análisis por PCR:

Elevada sensibilidad para detectar la presencia de cantidades ínfimas del gen secuencia diana de interés dentro del material genético presente en la muestra.

Breve período de tiempo para elaborar los reactivos en comparación con los ensayos inmunológicos, la síntesis de cebadores frente a la producción de anticuerpos.

Los reactivos necesarios están mayoritariamente disponibles comercialmente.

El análisis de las muestras es muy rápido.

Permite discriminar entre diferentes tipos de modificación genética.

## **B) Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real**

Brandemberg *et, Al* (2011) comenta que otra estrategia que mejora la precisión, especificidad y el rendimiento de la PCR cuantitativa es la PCR en tiempo real. Esta técnica fue desarrollada originalmente en 1992 y ha ganado popularidad debido a la introducción de varios instrumentos PCR en tiempo real, es completa y fácil de usar en ensayos de PCR. Una característica única de esta técnica de PCR es que la amplificación de la secuencia de ADN diana puede ser seguido durante toda la reacción mediante la supervisión indirecta de la formación del producto.

Para este fin, la reacción de PCR convencional se ha modificado con el fin de generar una constante señal medible, cuya intensidad está directamente relacionada con la cantidad de amplificado producto. Esta señal es por lo general de fluorescencia, que se produce por una interacción entre el ADN recién amplificado con ciertos fluoróforos añadido. Los aumentos en de fluorescencia durante la reacción, que corresponden a concentraciones

crecientes de ADN diana, se miden de forma automática, aparece en una pantalla de computadora, y puede ser analizados mediante el software adecuado (Brandemberg *et, Al* 2011).

### **3.10. Virus del mosaico de la coliflor**

Uno de los organismos más importantes en el género caulimovirus es el virus del mosaico de la coliflor. Fue el primer virus de plantas donde se descubrió el uso de ADN en lugar de ARN como material genético. El virus del mosaico de la coliflor se replica por transcripción inversa. Se puede identificar mediante el uso de una planta de indicador llamada *Brassica campestris*. El virus del mosaico de la coliflor provoca la formación de inclusiones en las células infectadas. El promotor de este virus se utiliza esencialmente todos los cultivos modificados genéticamente liberados comercialmente. Se necesita el promotor del virus del mosaico de la coliflor porque es potente en la expresión en estos cultivos, ya que impulsa la producción de mensajes de genes del casete de los genes insertados para proporcionar tolerancia a los herbicidas, resistencia a los insectos, y varias otras funciones consideradas para mejorar la calidad comercial de la cosecha (Ward 2009)

### **3.11. Proteína Cry 1F**

El gen *cryIFa2*, aislado de la bacteria común del suelo *Bacillus thuringiensis (Bt)* var. *aizawai*, produce la proteína insecticida Cry1F, una delta-endotoxina. Las proteínas Cry, de las cuales Cry1F es sólo una, actúan uniéndose selectivamente a sitios localizados en las microvellosidades del epitelio del intestino medio de especies de insectos susceptibles. Luego de la unión, se forman poros que alteran el flujo iónico en el intestino medio, lo que produce la parálisis intestinal, y eventualmente la muerte por septicemia bacteriana. La proteína Cry1F sólo es letal cuando es ingerida por las larvas de los insectos lepidópteros (polillas y mariposas) y la especificidad de su acción se atribuye directamente a la presencia de sitios de unión específicos en los insectos blancos (Argenbio 2006).

## **IV. METODOLOGIA.**

### **4.1. Ubicación**

La investigación se llevó a cabo en dos etapas, descritas de la siguiente manera;

#### **4.1.1. Recolección de muestras y aplicación de encuestas**

##### **A) Procedencia de las muestras**

La recolección de las muestras se llevó cabo en el municipio de Catacamas, tomando en cuenta tanto la zona urbana (ver imagen No. 2) como la zona rural (imagen No. 1) de la ciudad, se tomaron 50 muestras de tortillas de diferentes lugares, 25 de la parte urbana y 25 de la zona rural de la ciudad, el tamaño muestral por lugar fue de 2 tortilla, las cuales fueron recolectadas respetando las normas de recolección de muestras de alimentos para estudios en laboratorios, fueron transportadas en bolsas asépticas para alimentos siendo sometidas a bajas temperaturas hasta su estudio y evaluación en el laboratorio.

##### **B) Aplicación de encuestas**

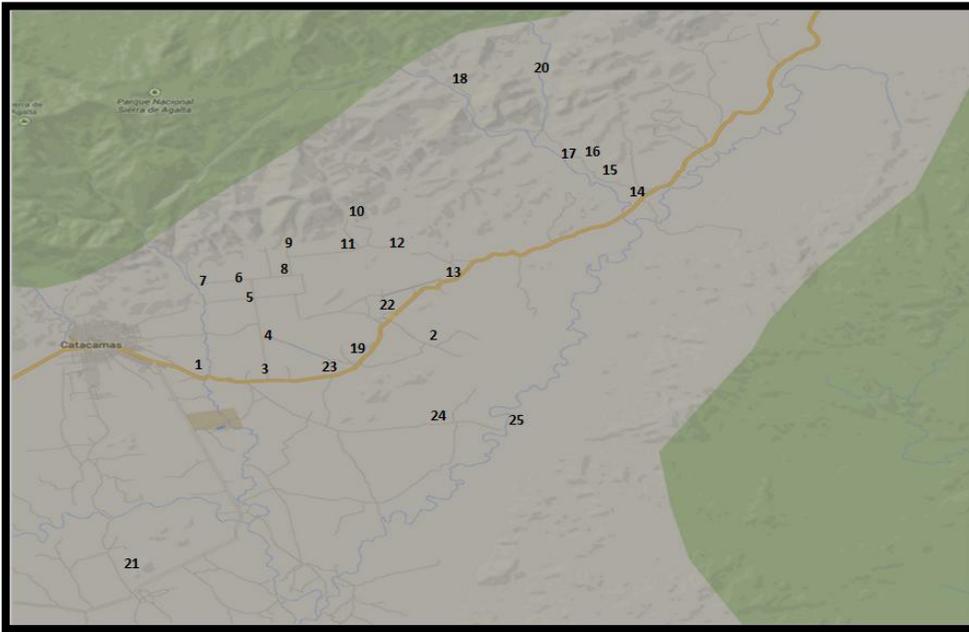
De forma conjunta a la recolección de las muestras se realizó una encuesta con el fin de determinar que tanto conocimiento poseen los pobladores del lugar con respecto al tema de investigación (Anexo No. 1).

Para la identificación de las muestras, se le asignó a cada una un código (ver tabla No. 1) a cada una para poder tener un mejor manejo de la información con respecto a cada muestra y a su procedencia (Ver figuras 1 y 2) durante el tiempo de la investigación.

**Tabla No. 2** Códigos de las muestras según la zona

Zona	Lugar	Código	Zona	Lugar	Código
	El Espino	1.a		B. San Sebastián	1.b
	Zavala	2.a		B. El Centro	2.b
	Santa Clara	3.a		B. De Jesús	3.b
	La Nueva Esperanza	4.a		B. La Cruz	4.b
	Barrios	5.a		B. Las Lomas	5.b
	La Colonia Agrícola	6.a		B. La Hoya	6.b
	Guanaja	7.a		B. La Mora	7.b
	Sabana Larga	8.a		B. El Estadio	8.b
	Jamasquire	9.a		B. La trinidad	9.b
	El Cerro	10.a		B. San Francisco	10.b
	El Guanacaste	11.a		B. El Hatillo	11.b
	Siguete	12.a		B. Los laureles	12.b
Rural (a)	Aguacate	13.a	Urbana (b)	B. Santa Cruz	13.b
	Rio Tinto	14.a		B. El Colegio	14.b
	Corralitos	15.a		B. El Campo	15.b
	Campo Nuevo	16.a		B. Zunilapa	16.b
	La boca de Vallecito	17.a		B. Juan Pablo II	17.b
	La Nueva Esperanza R.T.	18.a		Col. 4 de Mayo	18.b
	Coyote	19.a		B. La Pradera	19.b
	Vallecito	20.a		B. El Llano	20.b
	San Pedro de Catabamas	21.a		B. El Ojo de Agua	21.b
	La Sosa	22.a		B. La Nueva Esperanza	22.b
	Las Agujas	23.a		Col. Donal Hall	23.b
	Las Mesetas	24.a		B. San José	24.b
	Las Lagunas del Huyaste	25.a		Mercado Municipal	25.b

**Figura 1.** Mapa de la zona rural estudiada. Muestras del 1a hasta la 25a.



**Imagen No.2** Mapa de la zona Urbana estudiada. Del 1b hasta la 25b



**Fuente:** <https://www.google.com/maps/preview#!data=!1m4!1m3!1d28323!2d-85.887723!3d14.8420198>

## 4.2. Análisis de las muestras

La detección de la presencia de OGM en las muestras de tortillas recolectadas se llevó a cabo en los laboratorios de Inmunología, Escuela de Microbiología, Facultad de Ciencias.

Universidad Nacional Autónoma De Honduras, Tegucigalpa M.D.C. Francisco Morazán y se detalla a continuación:

#### **4.2.1. Estudio molecular**

El estudio molecular que se realizó para el análisis de las muestras, se basó en las prácticas del manual de laboratorio de la clase de Biotecnología II utilizado en la escuela de microbiología de la UNAH el cual fue desarrollado por Carrasco (2009) y se detalla a continuación:

##### **I. Extracción y purificación del ADN de las muestras de tortillas**

Para la extracción ADN de las muestras de tortillas se utilizó el protocolo de CTAB modificado (Anexo 3). Una vez extraído el ADN, se procedió a la purificación del mismo con cloroformo y se precipito el ADN con etanol absoluto. Debido al número de muestras se decidió que el proceso de extracción se realizara por etapas, realizando extracciones de 10 muestras por día lo que llevo a este proceso a una duración de una semana para obtener el ADN de las 50 muestras que se recolectaron.

##### **II. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Con el ADN de las muestras ya extraído, se procedió a la preparación y montaje de las muestras en el termociclador para amplificar el material genético. Previo a la amplificación se realizó la preparación de las muestras para el montaje en el termociclador (ver tabla No. 3) y se preparó el termociclador bajos los términos requeríos para la amplificación del molde de ADN a estudiar (ver tabla No. 4)

**Tabla No. 3** Preparación de las muestras para amplificación en el termociclador.

Muestra	No.	Primer	Mix (μl)	H <sub>2</sub> O3d (μl)	Primer (μl)	ADN (μl)	Taq P. (μl)
A	1	pCAMv F	8	3	2F + 2R	5	0,1
A	2	GCTCCTACAAATGCCATCA	8	3	2F + 2R	5	0,1
.	.	pCAMv R	.	.	.	.	
.	.	GATAGTGGGATTGTGCGTCA	.	.	.	.	
.	.		.	.	.	.	
A	25		8	3	2F + 2R	5	0,1
B	1	pCAMv F	8	3	2F + 2R	5	0,1
B	2	GCTCCTACAAATGCCATCA	8	3	2F + 2R	5	0,1
.	.	pCAMv R	.	.	.	.	
.	.	GATAGTGGGATTGTGCGTCA	.	.	.	.	
.	.		.	.	.	.	
B	25		8	3	2F + 2R	5	0,1
C+	Soya T.	pCAMv F/R	8	7	2F + 2R	1	0,1

**Nota:** un total de 51 muestras, la temperatura de hibridación para el Primer fue de 54 °C.

**Tabla No. 4.** Condiciones de PCR para la amplificación del promotor pCAMv.

<b>A- Condiciones de la amplificación:</b>	
<b>1 Ciclo</b>	94 °C durante 120 seg.
<b>35 Ciclo</b>	94 °C durante 40 seg.
	54 °C durante 40 seg.
	72 °C durante 120 seg.
<b>1 Ciclo</b>	72 °C durante 120 seg.

### III. Electroforesis del ADN en geles de agarosa y tinción del ADN

Una vez amplificado el ADN molde se procedió a la preparación de la muestra para ser sometidas a la electroforesis, previo a esto se mezcló el ADN amplificado con el tampón de carga el cual sirve para observar la corrida electroforética. Para la preparación de la muestra mezclamos 20 μl de ADN amplificado o 2 μl de tampón de carga 10X.

Montaje de Electroforesis:

Se preparó gel de agarosa al 3% en un volumen final de 50 ml. Se depositó las muestras en los pocillos de gel agarosa en seco. Se colocó el gel agarosa con las muestras en la cámara de electroforesis. Se procedió a la corrida electroforética bajo los siguientes términos: un voltaje constante de 150 V, por un lapso de tiempo de 30 min. Una vez que el gel con las muestras pasaron por la electroforesis, los geles de agarosa se tiñeron con bromuro de etidio (A una concentración de  $1\mu\text{g/ml}$ ) durante 5 min. Se realizaron 3 lavados al gel para quitar el exceso de bromuro de etidio y tener una mejor visualización a la hora de observar los resultados en el transiluminador.

#### **IV. Fotografía de ADN en geles de agarosa.**

Una vez que el gel fue teñido en bromuro de etidio, se procede a observar el gel en el transiluminador de rayos UV, se colocó el gel y se procedió a la toma de la fotografía para poder evaluar de mejor forma los resultados obtenidos. La fotografía fue tomada con una cámara marca Sony modelo Cyber-shot de 14.1 mega pixeles. Una vez tomadas las fotografías, se procedió a revelarlas en la computadora para su posterior observación y evaluación.

#### **4.2.2. Estudio inmunoserológico ELISA.**

Para llevar a cabo la detección de la proteína Cry 1F mediante la técnica de ELISA, se procedió a extraer la proteína de las tortillas a evaluar con un método diferente de extracción basado en el detergente SDS, en esta ocasión la proteína a investigar fue la Cry 1F presente en alguno de los eventos liberados en el país (ver numeral 4.7.2 inciso c), una vez extraída las proteínas se hizo el trasvase a las microplacas de ELISA y se sometió a incubación por una hora a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Luego de la incubación se le hicieron 3 lavados con PBS tween-20 a la placa ELISA, se agregó el conjugado e incubamos de nuevo por una hora a

37 °C. Se lavó nuevamente por 8 veces seguidas con PBS tween-20 para luego agregar el sustrato e incubamos a temperatura ambiente por media hora una vez que transcurrió el tiempo de incubación se procedió al lector de ELISA para la interpretación de los resultados.

## **V. RESULTADOS Y DISCUSION**

El trabajo investigativo se llevó a cabo entre el 20 de Julio y el 30 de agosto del presente año, antes de comenzar con la investigación se realizaron pruebas preliminares para estandarizar el protocolo de laboratorio a seguir y así disminuir el error en los resultados obtenidos. Para el proceso de las muestras en el laboratorio se tomó de 100-200 mg de la muestra de tortilla en un vial de 1.5 ml en donde se llevaron a cabo los demás pasos del protocolo de extracción (Anexo No.4).

### **5.1. Análisis de resultados**

Los resultados obtenidos según los factores de estudio (presencia del promotor pCAMv y presencia de la proteína Cry 1F) para la variable presencia o ausencia de alimentos OGM en el municipio de Catacamas Olancho se presentan a continuación:

#### **5.1.1. Presencia de OGM en muestras de tortillas de maíz**

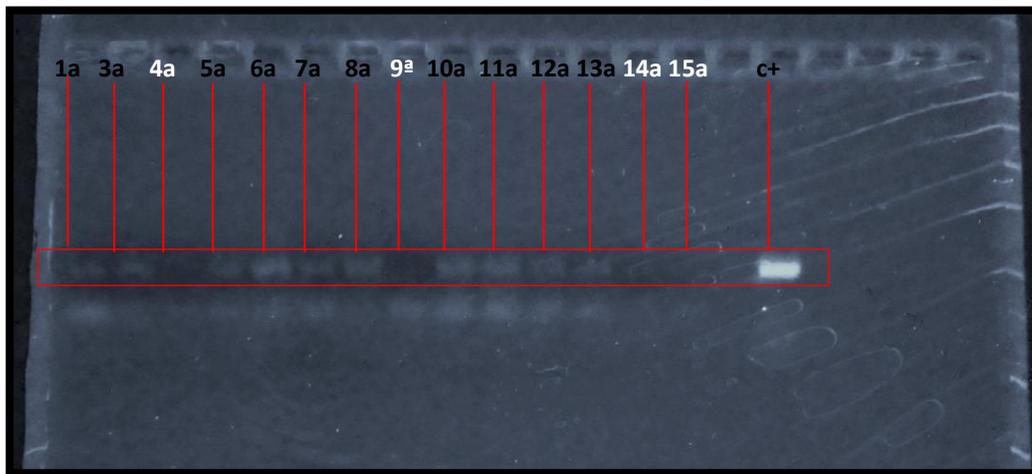
Como resultado final se obtuvo un total de 27 lugares donde se detectó la presencia de alimentos transgénicos, de los cuales, 15 están ubicados en la zona rural del municipio y 12 pertenecen al casco urbano, es decir que en más del 50% de las zonas estudiadas se encontró presencia de OGM en las tortillas analizadas.

### 5.1.2. Resultados positivos para PCR del promotor pCAMv

#### A) Zona rural

Para la detección del promotor pCAMv, se analizaron las 25 muestras obtenidas en la zona rural del municipio y una vez estudiadas mediante la técnica del PCR se obtuvieron 13 muestras positivas para el amplificado del promotor antes mencionado (ver figura 3).

**Figura 3.** Fotografía del gel con muestras positivas en PCR para la zona rural.

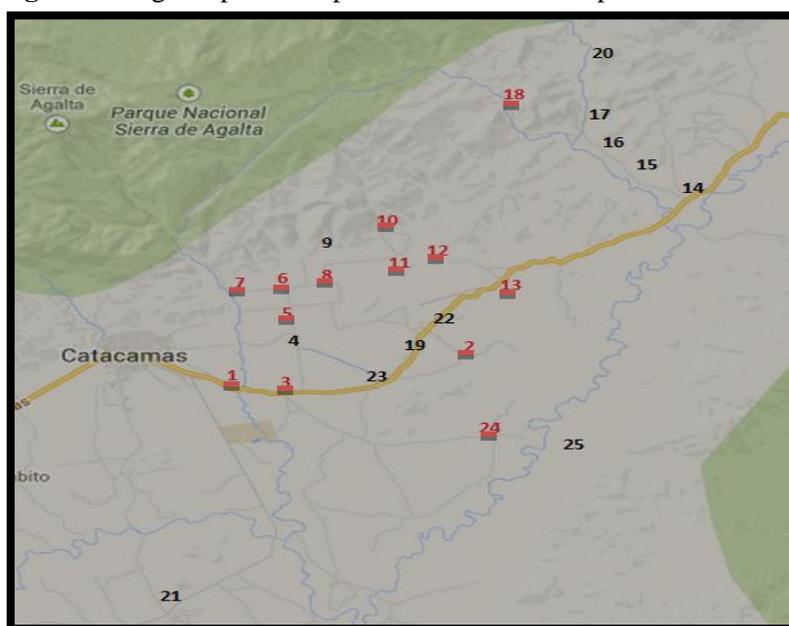


Las muestras que presentaron amplificado, son aquellas que se observan a la misma altura del control positivo utilizado (soya transgénica). Se puede notar una menor intensidad en cuanto a la señal, sin embargo esta, es lo suficientemente evidente para determinar la presencia del gen buscado, los lugares que resultaron con muestras de tortillas positivas para la presencia de pCAMv se enlistan en la tabla No. 5 y se puede observar su ubicación geográfica en la figura 4 (las muestras positivas se identifican por estar subrayadas).

**Tabla No. 5** Lugares de las muestras positivas en PCR zona rural.

Código	Lugar	Código	Lugar
1 a	El Espino	10 a	El Cerro
2 a	Zavala	11 a	El Guanacaste
3 a	Santa Clara	12 a	Siguate
5 a	Barrios	13 a	Aguacate
6 a	La colonia Agrícola	18 a	La nueva Esperanza de Rio Tinto
7 a	Guanaja	24 a	Las Mesetas
8 a	Sabana Larga		

**Figura 4.** Lugares positivos para OGM en tortillas por técnica PCR (Zona A).



Fuente: <https://www.google.com/maps/preview#!data=!1m4!1m3!1d28323!2d-85.887723!3d14.8420198>

En la figura 4. Se puede observar una tendencia en cuanto a la ubicación de las muestras positivas y se nota que los lugares positivos para esta zona son cercanos al casco urbano de la ciudad, esto se podría relacionar con el factor socio económico de los productores que viven en la cercanía de la ciudad, ya que, pueda ser que ellos tengan una mayor facilidad de adquirir y sembrar semilla mejorada mediante la ingeniería genética.

## B) Zona urbana

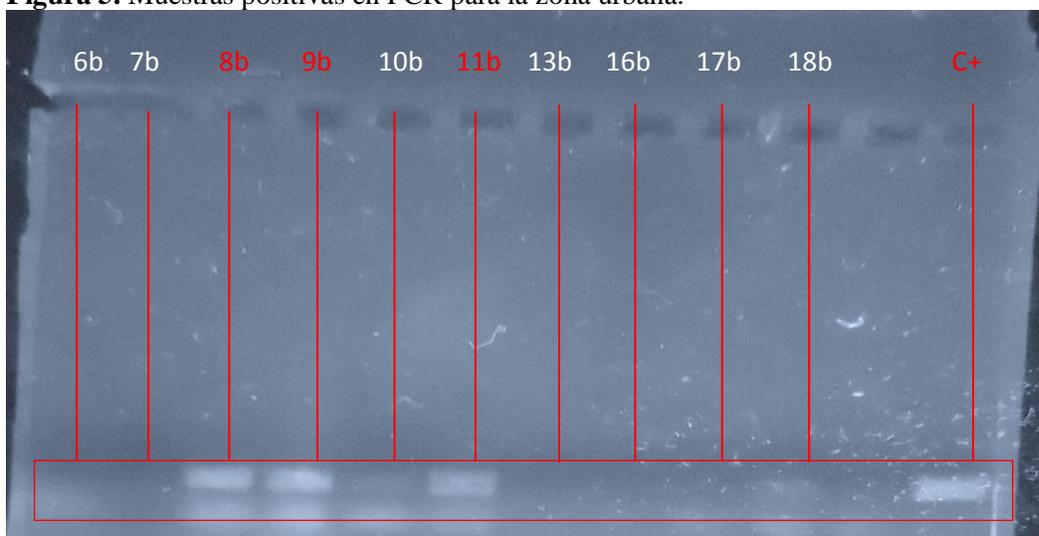
Se analizaron mediante PCR las muestras procedentes del área urbana de la ciudad y se encontraron 7 muestras con la presencia del promotor pCAMv, a continuación podemos observar las muestras que resultaron positivas (Tabla No. 6) y su respectivos lugares de procedencia (Ver figura 7).

**Tabla No. 6** Muestras positivas mediante PCR en la zona urbana

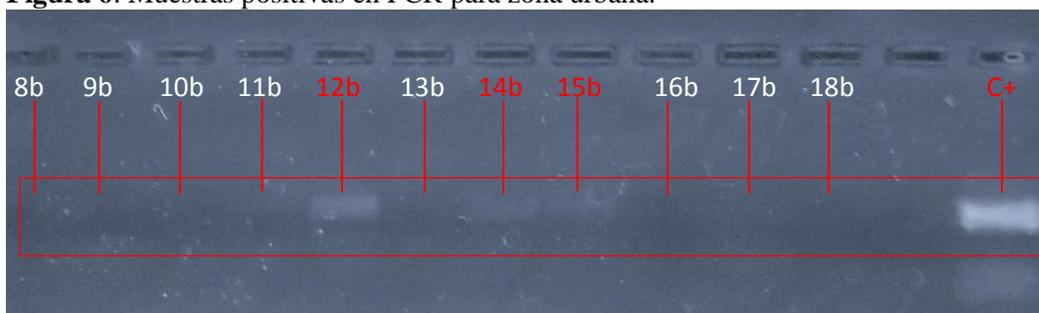
Código	Lugar	Código	Lugar
5.b	B. Las Lomas	11.b	B. El Hatillo
8.b	B. El Estadio	14.b	B. El colegio
9.b	B. La Trinidad	15.b	B. El Campo

En las figuras 5 y 6 se observan los amplificados en las muestras evaluadas para la zona urbana, se obtuvieron señales de presencia en seis de las muestras aunque no con la misma intensidad entre ellas y entre los controles utilizados pero lo suficiente para determinarles como muestras positivas para el pCAMv.

**Figura 5.** Muestras positivas en PCR para la zona urbana.

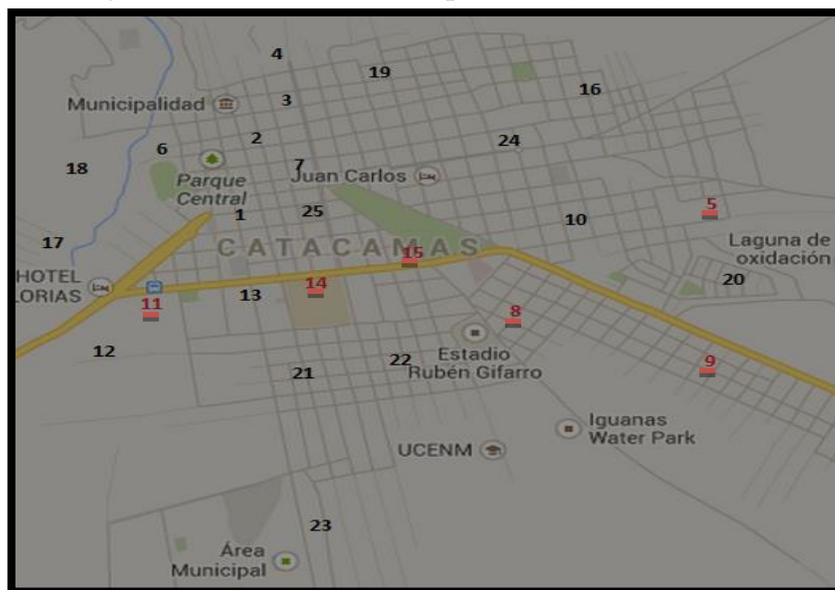


**Figura 6.** Muestras positivas en PCR para zona urbana.



En el caso de la zona urbana uno de los datos más importantes a recalcar es que la materia prima utilizada para la elaboración de las tortillas es en su mayor parte la harina de maíz comercial, para esta técnica, 4 de las 6 muestras detectadas fueron elaboradas con harina comercial.

**Figura 7.** Lugares con muestras Positivas para PCR (Zona b).



Fuente: <https://www.google.com/maps/preview#!data=!1m4!1m3!1d28323!2d-85.887723!3d14.8420198>

De las 50 muestras analizadas tanto para la zona urbana como para la rural se encontraron un total de 20 muestras positivas para el promotor pCAMv, el cual está presente en los cuatro eventos de maíz transgénicos liberados en Honduras (ver tabla No. 1). En la imagen No. 4 se observa que los lugares más cercanos al casco urbano del municipio son los que en su mayoría salieron positivos mediante la prueba de PCR, mientras que en el área urbana,

podemos ver una menor presencia del promotor presente en las muestras de tortillas que fueron analizadas (ver figura 7).

### 5.1.3. Resultados obtenidos mediante la técnica de ELISA

#### A) Área rural

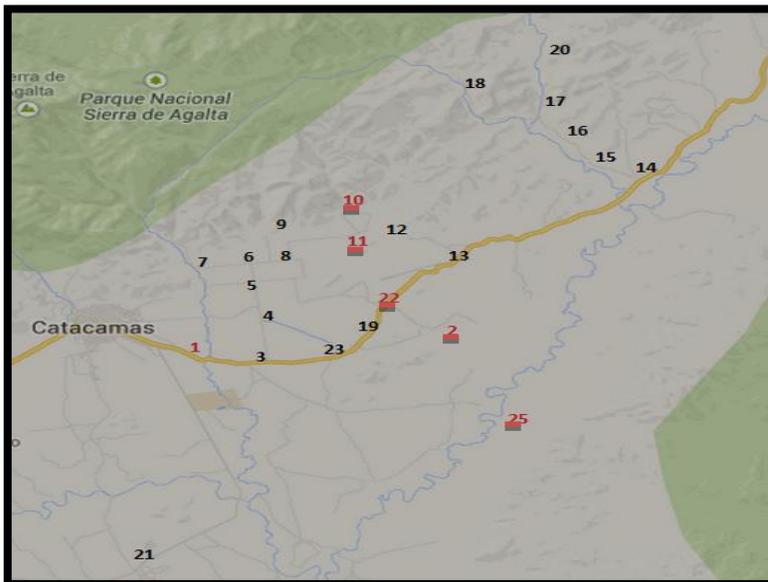
En cuanto a la detección de la proteína Cry 1F, una vez extraídas y evaluadas las proteínas de las 25 muestras de tortillas procedentes de la zona rural del municipio se obtuvieron 6 muestras positivas (ver tabla No. 7), los lugares que resultaron positivos mediante esta técnica se observan en la figura 8.

**Tabla No. 7** Muestras positivas por técnica ELISA en la zona Rural.

<b>Código</b>	<b>Lugar</b>	<b>Código</b>	<b>Lugar</b>
<b>1.a</b>	El Espino	11.a	El Guanacaste
<b>2.a</b>	Zavala	22.a	La Sosa
<b>10.a</b>	El Cerro	25.a	Las Lagunas del Huyaste

Podemos observar en la tabla No. 7 y comparando con los resultados de la técnica de PCR (tabla No. 5) que hay lugares que ya habían sido detectados como positivos, lo cual nos indica que el maíz con el cual pudieron ser elaboradas estas tortillas podrían ser los eventos Hércules TC 1507 y VT PRO o algún otro maíz modificado al cual le fue insertado ambos genes a la hora de su construcción genética.

**Figura 8.** Lugares Positivos para OGM en tortillas mediante ELISA (Zona A).



**Fuente:** <https://www.google.com/maps/preview#!data=!1m4!1m3!1d28323!2d-85.887723!3d14.8420198>

Con relación a las muestras detectadas como positivas en esta técnica (ELISA), vemos que los lugares de donde provienen están cercaos entre ellos lo cual nos lleva a sospechar que en esta área el maíz modificado genéticamente para resistir el daño hecho por los insectos a la planta (Bt) ha sido aceptado de una manera positiva por parte de los productores de esta área.

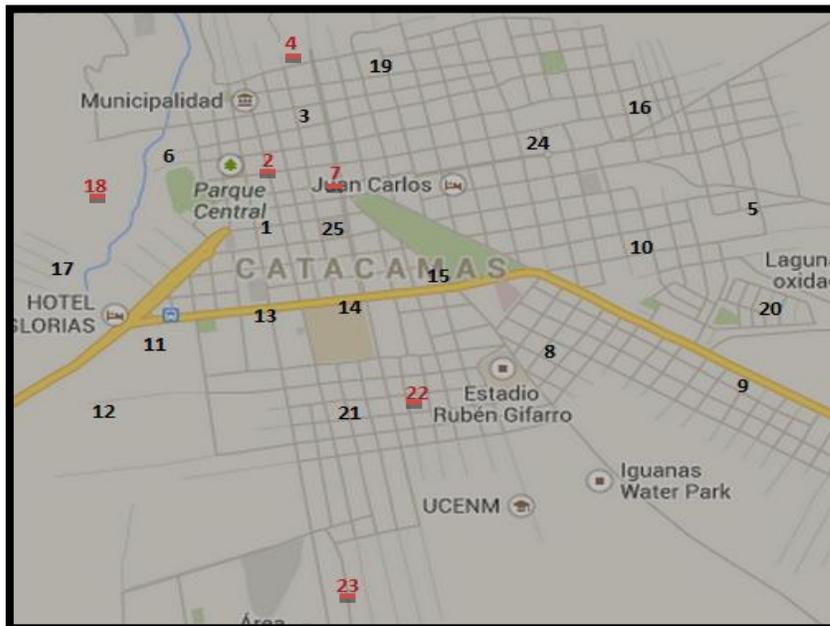
### B) Área urbana

Basados en la detección de la proteína Cry 1F, una vez sometidas al análisis las 25 muestras de la zona urbana se determinó la presencia de OGM en 6 muestras (tabla No. 8) evaluadas. Los lugares de procedencia se observan en la figura 9.

**Tabla No. 8** Muestras y lugares positivos mediante ELISA.

Código	Lugar	Código	Lugar
2.b	B. El Centro	18.b	Col. 4 de Mayo
4.b	B. La Cruz	22.b	B. La Nueva Esperanza
7.b	B. La Mora	23.b	Col. Donal Hall

**Figura 9.** Lugares con muestras positivas para ELISA (Zona b).



Fuente: <https://www.google.com/maps/preview#!data=!1m4!1m3!1d28323!2d-85.887723!3d14.8420198>

Los resultados obtenidos de las 50 muestras analizadas mediante ELISA se detectó la presencia de organismos genéticamente modificados en alimentos con un total de 12 muestras positivas, donde 6 son procedentes de la área urbana y 6 de la rural. La proteína Cry 1F que se detectó en las muestras evaluadas, se encuentra en dos de los eventos modificados genéticamente en Honduras (ver tabla No. 1).

#### **5.1.4. Relación de muestras positivas**

Al analizar las muestras mediante las dos técnicas (Técnica molecular de PCR y Técnica ELISA) se encontró la presencia de 4 (ver tabla No. 9) muestras positivas para ambas técnicas, es decir que 5 de las 50 muestras evaluadas contenían el gen promotor pCAMv y la proteína Cry 1F.

**Tabla No. 9** Relación de muestras positivas mediante ambas técnicas.

<b>No.</b>	<b>Lugar</b>	<b>Positivos para pCAMv</b>	<b>Positivos para proteína Cry1</b>	<b>Materia Prima</b>
1	El Espino	+	+	Maíz
2	Zavala	+	+	Maíz
3	Santa Clara	+		Harina de maíz
4	Barrios	+		Maíz
5	La colonia Agrícola	+		Harina de maíz
6	Guanaja	+		Maíz
7	Sabana Larga	+		Maíz
8	El Cerro	+	+	Maíz
9	El Guanacaste	+	+	Maíz
10	Siguete	+		Harina de maíz
11	Aguacate	+		Harina de maíz
12	La nueva Esperanza de Rio Tinto	+		Maíz
13	Las Mesetas	+		Harina de maíz
14	Las Lagunas del Huyaste		+	Maíz
15	La Sosa		+	Harina de maíz
16	B. El Centro		+	Harina de maíz
17	B. La Cruz		+	Harina de maíz
18	B. La Mora		+	No Contesto
19	Col. 4 de Mayo		+	No Contesto
20	B. La Nueva Esperanza		+	Maíz
21	Col. Donal Hock		+	Harina de maíz
22	B. Las Lomas	+		Harina de maíz
23	B. El Estadio	+		Maíz
24	B. La Trinidad	+		Maíz
25	B. El Hatillo	+		Harina de maíz
26	B. El Colegio	+		Harina de maíz
27	B. El Campo	+		Harina de maíz

En el cuadro No. 9 podemos observar como en su mayoría las muestras que dieron positivas en ambas técnicas, fueron elaboradas a base de harina de maíz comercial aunque en la encuesta realizada la mayor fuente de materia prima para la elaboración de las tortillas fue el maíz nixtamalizado por las mismas personas que elaboran las tortillas como se discutirá a continuación.

#### **5.1.5. Resultados de la encuesta.**

La encuesta muestra que un 84% de las personas sostuvo no tener conocimiento sobre que es una planta transgénica o OGM; sin embargo el 16% dijo conocer sobre la temática.

Del 100% de los encuestados, sobre si habían consumido alimentos de origen transgénicos el 58% menciona desconocerlo mientras que el 38% piensa que probablemente sí y un 4% no supo que contestar.

En relación a la materia prima utilizada para la elaboración de las tortillas, el 60% respondió que utilizan el maíz que ellos mismos nixtamalizan, el 38% es de procedencia de harina comercial y el 2% ignora su procedencia.

#### **5.2. Muestras negativas**

Del 100% de las muestras analizadas, el 46% resultaron negativas a la presencia de OGM, sin embargo las pruebas de laboratorio que se llevaron a cabo para la detección de transgénicos son de alta especificidad, es decir que solo aquellos eventos que contenga las modificaciones genéticas del promotor pCAMv y el gen que codifica para la proteína Cry 1F en sus constructos pueden ser detectados mediante las técnicas utilizadas (PCR y ELISA).

La selección de la especificidad de las pruebas se hizo en base a los 4 eventos liberados por el gobierno de Honduras mediante la Secretaria de Agricultura y Ganadería (SAG) los cuales son legalmente únicos y activos en el país actualmente, estos eventos son: TC1507, Mon 810, VTPRO y el NK 603. Estos eventos contienen la presencia del promotor pCAMv y en dos de los productos biotecnológicos contienen el gen para para proteína Cry 1 F, sin embargo, al no poder analizar o detectar toda la construcción genética de los eventos antes mencionados, no podemos asegurar que las muestras que resultaron negativas no pudieran ser de nuevos eventos no aprobados y que dentro de su constructo no exista en alguna de sus partes estos elementos a los cuales los reactivos utilizados no pudieron detectar.

Es posible que en el país se estén cultivando de forma no controlada, nuevos eventos de maíz transgénicos liberados en otros países, que han podido ser ingresados al país de forma clandestina.

## **VI. CONCLUSIONES**

Se detectó la presencia del promotor pCAMv en el 42% de las muestras evaluadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa PCR.

En la prueba ELISA se detectó la presencia de la proteína Cry 1f en un 24% de las muestras estudiadas. Encontrando en un 10% de muestras evaluadas, la presencia del promotor pCAMv y la proteína Cry 1F en su estructura genética simultáneamente.

Se determinó presencia de OGM en la zona rural en un 60% en aldeas y caseríos visitados, y en la zona urbana del municipio un 44% respectivamente.

Del 100% de las muestras colectadas, el 54% resultaron positivas mediante ambas técnicas (PCR y ELISA), sin embargo el restante 46% probablemente podrían ser o maíces criollos u otras construcciones genéticas no detectadas por las pruebas empleadas y que no han de estar registradas en el país.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Ampliar la presente investigación a nivel nacional para poder tener una perspectiva como país sobre la realidad que se vive en Honduras con los cultivos transgénicos, incluyendo a su vez, la utilización de un mayor número de reactivos para poder detectar así posibles nuevos eventos no registrados en el país.

## VIII. BIBLIOGRAFÍAS

Akio Kido E. de Jaramillo Hondson E. Zelaschi F C. de Lima Aragão F J. de Sousa G D. Villegas I S. Solleiro Rebolledo J L. de Faria Corrêa J. de Melo Almeida M. Roca M M. Borachik M. de Andrade Paes P. Ortiz Garia S. Parrot W. 2011. Guía para la evaluación de riesgo ambiental de Organismos Genéticamente Modificados.

Agbios. 2006. Evaluación de riesgo de los cultivos genéticamente modificados Parte III: Descripción de 12 eventos seleccionados. Argentina. Consultado en 15 de mayo del 2013. Disponible en: [www.agbios.com](http://www.agbios.com)

Agro-noticias de América Latina y el Caribe, FAO. 2011 Consultado el 22 de Oct. 2013. Disponible en [http://www.fao.org/agronoticias/agro-noticias/detalle/es/?dyna\\_fef%5Bbackuri%5D=21175&dyna\\_fef%5Buid%5D=74287](http://www.fao.org/agronoticias/agro-noticias/detalle/es/?dyna_fef%5Bbackuri%5D=21175&dyna_fef%5Buid%5D=74287)

Amador L. 2005. Plato, cuchara y comida, La Tortilla. Alimentación y Nutrición (En línea). s. ed. 61-63. Consultado 25 Abr. 2013. Disponible en: [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_05/tortillas\\_dic05.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_05/tortillas_dic05.pdf)

Bisang E. Mercedes C. Cesca V. 2009. Biotecnología y Desarrollo (Correo electrónico). Chile. Publicación de las naciones unidas. 107 P.

Bolívar Zapata F G. 2007. Fundamentos y Casos Exitosos de la biotecnología Moderna. México. 2 ed. 733 p.

Brandemberg O. Dhlamini Z. Sensi A. Ghosh K. Sonnino A. 2011. Biosafety Resource Book: Introduction to Molecular Biology and Genetic Engineering. Italia. Food And Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 573 p.

Calderón A. s.f. Ingeniería Genética y Cultivos De Tejidos (En línea). s. ed. Consultado el 8 de May. 2013. Disponible en: [http://webapp.ciat.cgiar.org/biotechnology/cultivo\\_tejidos/capitulo33.pdf](http://webapp.ciat.cgiar.org/biotechnology/cultivo_tejidos/capitulo33.pdf)

Carrasco J; 2010. Manual de bioanálisis e inmunología (Correo Electrónico). Honduras. s. ed. 17 p.

CAST (Consejo para las Ciencias Agrícolas y la Tecnología). 2005. La biotecnología de los cultivos y el futuro de los alimentos: una contribución científica.

Corona B. et al. 2006. Detección de organismos genéticamente modificados (OGMs) en la cadena alimentaria. Salud Animal. (2): 69-68.

Cruz Flores Y. A. Rodríguez Herrera R. Aguilar C. N. Contreras Esquivel J. C. 2007. Nuevos métodos para la detección de residuos de organismos genéticamente modificados en alimentos basados en el ADN. BioTecnología. Mexico. s. ed. 2 (11): 28-36.

De Robertis E. Hib J. 2004. Fundamentos de la Biología Celular y Molecular de De Robertis (Libro en digital). Argentina. 3ra. Ed. 556 p.

Food and Agriculture Organizations of the United Nations (FAO). 2009. Biosafety of Genetically Modified Organisms: Basic concepts, methods and issues. Italia. 301 p.

FECAEXCA. Sin fecha. fichas técnicas regionales de productos agroindustriales para asistencia técnica a pymes. s. ed. Consultado el 25 Abr. 2013 disponible en: [http://portal.export.com.gt/portal/clientes/fichas\\_tecnicas/Tortillas%20de%20maiz.pdf](http://portal.export.com.gt/portal/clientes/fichas_tecnicas/Tortillas%20de%20maiz.pdf)

García J. L. s.f. Ingeniería Genética y Biotecnología. Consultado el 8 de May. 2013. Disponible en <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/535/553>

Gear J. R. 2006. Maíz y Nutrición. Argentina. ILSI. Consultado el 25 abril del 2013. Disponible en: [http://www.cisan.org.ar/adjuntos/20101222094800\\_.pdf#page=4](http://www.cisan.org.ar/adjuntos/20101222094800_.pdf#page=4)

Herbert M. R. García J. E. García M. 2006. Alimentos transgénicos: Incertidumbre y – riesgos basados en evidencias. Revista Acta Académica. (39): 129-145.

IÁÑEZ E. 1997. Ingeniería Genética de Plantas. Centro Mediterráneo de la Universidad de Granada. Disponible en: <http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/igvegetal-1.html>

Jiménez Peralta M. 2003. Detección de alimentos y cultivos genéticamente modificados. Tesis Bach. Ing. Bio. Costa Rica. Presentado a la Escuela De Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica. 89 p.

Lisker R. 2000. Alimentos Genéticamente Modificados. Medicina Universitaria. Cuba. s. ed. 2 (6): 5-6.

Maldonado C. Álvarez E. L. Castellanos J. 2007. Manual de Procedimientos de laboratorio para la detección de Organismos Genéticamente modificados (OGM). Colombia. s. ed. 70 p. Consultado el 9 May. 2013. Disponible en: <http://www.bch.org.co/bioseguridad/doc/ManualLaboratorioOGM.pdf>

Martínez S. Corona B. 2007. Algunos conceptos relacionados con los organismos genéticamente modificados. Salud Animal. Cuba. (1); 1-7.

Núñez Cárdenas, L. 2011. Detección y ensayo de los organismos genéticamente modificados. Revista cubana de alimentación. (2): 293-302.

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECDs). 2003. Consensus document on the biology of *zea mays* subsp. *mays* (maize). Francia. Consultado en línea el 21 de Oct. 2013 Disponible en; <http://www.oecd.org/biotrack/>

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECDs). Safety Assessment of Transgenic organism. Consensus Document. 2006. Consultado el 22 de Oct. 2013. Disponible en: [http://books.google.hn/books?id=owuOKLGShyWC&pg=PA47&hl=es&source=gbs\\_to\\_c\\_r&cad=4#v=onepage&q&f=false](http://books.google.hn/books?id=owuOKLGShyWC&pg=PA47&hl=es&source=gbs_to_c_r&cad=4#v=onepage&q&f=false)

Ortas L. 2008. Morfología del maíz. El cultivo del maíz, morfología y aspectos generales (En línea). Sin ed. 15/04/13. Disponible en <http://nolaboreo.es/publicaciones/articulos/pdf/maiz.pdf>

Paredes O. et, Al. 2008. La Nixtamalización y el valor nutritivo del maíz (En línea). Consultado el 15 Abr. 2013. Disponible en [http://www.alumno.unam.mx/algo\\_leer/nixtamalizacion.pdf](http://www.alumno.unam.mx/algo_leer/nixtamalizacion.pdf)

Ramírez Lavariega A. G. Jiménez Mendoza, J. A. 2011. Nixtamalización y molienda (Digital). México s. ed. Consultado 25 Abr. 2013. Disponible en: [http://utvco.edu.mx/enero\\_abril2011/nixtamalizacion.pdf](http://utvco.edu.mx/enero_abril2011/nixtamalizacion.pdf)

Riechmann J. 2004. Transgénicos: el haz y el envés. Una perspectiva crítica. España. CATARATA. 324 p.

Ridner E. Gamberale, M. C. Burachik M. Lema M. Rubistein C. Levitus G. 2008. Alimentos transgénicos mitos y realidades. Argentina. Artes Gráficas Serval. 112 p.

Rodríguez Ferri E. F. Zulamacarregui J. M. Otero Carballeria A. Callejas Suarez A. De la Fuente Crespo L. F. 2003. Lo que usted debe saber sobre alimentos transgénicos Y organismos manipulados genéticamente. Edición Caja España. España. (16): 0-70 P.

Sánchez Cuevas M. C. 2003. Biotecnología: Ventajas y Desventajas Para la Agricultura. Revista UDO Agrícola. (1): 1-11. Consultado 08 de May. 2013. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg03001> }

SEBIOT (Sociedad Española de biotecnología). 2003. ¿Qué es la biotecnología de alimentos? Biotecnología Y Alimentos; Preguntas y Respuestas. Consultado el 9 de May. disponible en: [http://www.monsanto.com/global/es/noticias-y-opiniones/Documents/otras\\_publicaciones/Sebiot\\_3v2.pdf](http://www.monsanto.com/global/es/noticias-y-opiniones/Documents/otras_publicaciones/Sebiot_3v2.pdf)

Silva Castro C. A. 2005. Maíz Genéticamente Modificado. Bogotá Colombia. Consultado 15 Abr. 2013. Disponible en [www.agrobio.org](http://www.agrobio.org)

Serratos Hernández J. A. 2012. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México. 2da. Ed. 40 p.

Sonnino A. 2010. Biodiversidad y Biotecnologías; El eslabón estratégico (Libro en digital). s. ed. P 299-320.

Terrón Guardado M. 2008. Técnicas Moleculares en la Detección de Organismos Genéticamente Modificados en los Alimentos. Aplicación de la reacción en cadena de la polimeras. Consultado el 11 de May. 2013. Disponible en: <http://www.uned.es/experto-biotecnologia-alimentos/TrabajosSelecc/MartaTerron.pdf>

Toro Escobar L. 2013. Ingeniería genética. Colombia. Consultado el 8 de May. 2013 Disponible en [http://issuu.com/luisa-escobar-toro/docs/ingenier\\_a\\_\\_gen\\_tica#download](http://issuu.com/luisa-escobar-toro/docs/ingenier_a__gen_tica#download)

Departamento de agricultura de los Estados Unidos (USDA). 2011. Agricultural Biotechnology Annual; Honduras. Consultado el 19 de Oct. 2013. Disponible en: <https://www.google.hn/#psj=1&q=Agricultural+Biotechnology+Annual%3B+Honduras>.

Wagner S C. 2000. "GMO'S Alimentos Modificados Genéticamente. Industria Alimenticia (Correo Electrónico). s. ed. 44-48.

Weighardt F. s. f. Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente Modificados en Muestras de Alimentos; PCR cualitativa para la detección de OGM.

Ward M. 2009. Microbe of the Week 2009: Caulimovirus. University of Missouri. EEUU. Consultado el 18 de Nov. 2013. Disponible en: [http://web.mst.edu/~microbio/BIO221\\_2009/Caulimovirus.html](http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2009/Caulimovirus.html)

Yáñez E. 2004. Introducción a los organismos genéticamente modificados (en línea). Chile. Consultado el 9 de May. 2013. Disponible en: <http://www.biobusinessgroup.com/wp-content/uploads/Introducci%C3%B3n-a-los-OGMs.pdf>

## IX. ANEXOS

**Anexo No. 1** Encuesta aplicada en la recolección de las muestras.



**Universidad Nacional De Agricultura**  
**Universidad Nacional Autónoma de Honduras**  
**Catacamas Olancho.**



Nombre: \_\_\_\_\_

Lugar: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** a continuación se le presentan una serie de preguntas, conteste marcando con una x en el espacio que se la asigna a cada interrogante.

- 1- ¿Sabe usted que es un transgénico?  
a) Si \_\_\_\_ b) No \_\_\_\_
- 2- ¿Ha escuchado usted el término de Maíz transgénico?  
a) Si \_\_\_\_ b) No \_\_\_\_
- 3- ¿Conoce usted algún tipo de maíz mejorado?  
a) Si \_\_\_\_ b) No \_\_\_\_

(Si su respuesta es no, pase a la pregunta No 5.)

- 4- ¿Qué tipos de maíz mejorado conoce?

\_\_\_\_\_

- 5- ¿Sabe usted con qué propósito se crea el maíz transgénico?  
a) Si \_\_\_\_ b) No \_\_\_\_

- 6- ¿Conoce usted en que aspectos se mejora el maíz transgénico?  
a) Si \_\_\_\_\_ b) No \_\_\_\_\_
- 7- ¿Puede mencionar algunos de esos aspectos?  
\_\_\_\_\_
- 8- ¿Ha escuchado usted la palabra alimentos transgénicos?  
a) Si \_\_\_\_\_ b) No \_\_\_\_\_
- 9- ¿Sabe algo usted sobre el impacto que tienen este tipo de alimentos a la hora de ser consumidos?  
a) Si \_\_\_\_\_ b) No \_\_\_\_\_
- 10- Desde su punto de vista, ¿Qué impacto cree usted que tienen este tipo de alimentos en la salud al consumirlos?  
a) Positivo \_\_\_\_\_ b) Negativo \_\_\_\_\_ c) Ninguno \_\_\_\_\_
- 11- ¿Considera usted que ha consumido este tipo de alimentos?  
a) Si \_\_\_\_\_ b) No \_\_\_\_\_
- 12- ¿conoce usted de qué tipo de materia prima (Maíz nixtamalizado o harina) es utilizada para elaborar las tortillas que consume?  
a) Si \_\_\_\_\_ b) No \_\_\_\_\_
- 13- Mencione el tipo de materia prima con el cual se elabora las tortillas que consume (si son elaboradas a base de harina especifique la marca comercial de la misma):  
\_\_\_\_\_

**Gracias Por Su Valiosa Cooperación**

**Anexo No. 2** Preparación del CTAB modificado utilizado en la investigación.

Volumen Final = 100 ml de solución de lisis CTAB al 2%

- Concentraciones iniciales de: - NaCl al 5 M - Tris HCl al 2 M - EDTA al 0.5 M.
- Concentraciones finales de: - NaCl al 1.4 M – Tris HCl al 0.1 m – EDTA al 20 mM.

Cálculos para el NaCl:

$$FD = \frac{5 \text{ M}}{1.4 \text{ M}} = 3.5$$

Cálculos para el Tris-HCl

$$FD = \frac{2 \text{ M}}{0.1 \text{ M}} = 20$$

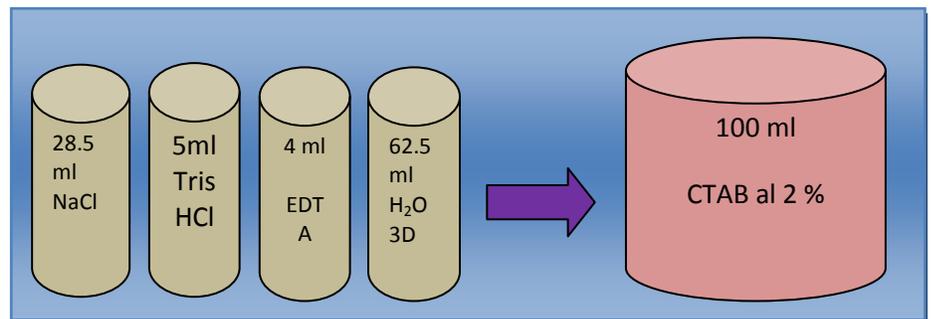
$$\text{Vol. F} = \frac{100 \text{ ml}}{3.5} = 28.5 \text{ ml}$$

$$\text{Vol. F} = \frac{100 \text{ ml}}{20} = 5 \text{ ml}$$

Cálculos para EDTA

$$FD = \frac{500 \text{ mM}}{20 \text{ mM}} = 25$$

$$\text{Vol. F} = \frac{100}{25} = 4 \text{ ml.}$$



### **Anexo No. 3** Materiales, Equipo y Reactivos utilizados en la investigación.

#### **Materiales:**

Bolsas para la recolección de muestras, Viales, Puntas de pipetas y micro pipetas, Dispensadores, Porta objetos, Placas Petri, Plásticos transparentes de envoltura, Beaker, Cinta adhesiva, Cubeta, Peine, Espátula.

#### **9.1.1. Equipo:**

Microcentrifuga, Termoblock Micropipetas, Transiluminador, Rotador, Termociclador, Bench Cooler, Congelador, Balanza analítica, Calentador, Cámara de Electroforesis, Fuente de Poder, Campana fotográfica, Cámara digital, Lector de ELISA, Computadora.

#### **9.1.2. Reactivos.**

CTAB, NaCl, Tris-HCl, EDTA, Bromuro de etidio, Agarosa, Mix de PCR, Aceite mineral Taq Polimerasa, TAE 50X (stock) USAR, Gliserol, SarcosilAzul de bromofenol, Xylen Cyanol, Agua destilada.

#### **Anexo No. 4** Protocolo de extracción de ADN.

### **Extracción y purificación del ADN de las muestras.**

La extracción y purificación del ADN de las muestras se realizó mediante la técnica llamada CTAB o método del bromuro de cetil-trimetil amonio el cual consiste en: A) Extraer los AN y exponerlos a las sales cuaternarios (CTAB) y el calor durante un tiempo, B) Purificar quitando proteínas, lípidos y otros componentes utilizando el cloroformo, C) precipitaremos del AN usando etanol absoluto frio y D) concentraremos el AN mediante microcentrifugacion. Durante la purificación, el AN se mantendrá en fase acuosa, las proteínas quedaran en la interface y los lípidos juntos con el DTAB y otros componentes pasaran a la fase orgánica (Cloroformo). Las muestras de AN purificadas tendrán ADN y ARN, como solo estaremos interesados en el ADN las muestras serán tratadas con Ribo Nucleasas.

#### **Procedimiento:**

- Macerar 100 mg de tortilla con 400 µl DTAB e incubar a 65 °C durante 40-45 min mezclando cada 5 min por inversión.
- Añadir igual volumen de cloroformo, mezclar (hasta que se vuelva lechoso)
- Microcentrifugar durante 3min.
- Transferir a la fase acuosa a un nuevo vial, añadir 2 volúmenes de etanol absoluto frio mezclar (Suavemente) e incubar a -20 °C toda la noche.
- Botar el SN y secar el sedimento en la estufa.
- añadir el sedimento seco 50 µl de agua destilada estéril.
- guardar a -20 °C hasta su uso.