Rev. Fitotec. Mex. Vol. 44 (3): 293 - 307, 2021

ACUMULACIÓN DE TRANSGENES EN EL MAÍZ NATIVO DE MÉXICO Y POSIBLES CONSECUENCIAS

TRANSGENE ACCUMULATION IN MEXICAN NATIVE MAIZE AND POSSIBLE CONSEQUENCES

Takeo Ángel Kato-Yamakake*

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

**Correspondencia* (katoy@colpos.mx)

RESUMEN

Se sabe que el maíz nativo de México está contaminado por transgenes, pero no se conoce si esos transgenes dañan a la planta de este cultivo, por lo que hace falta investigación al respecto. El presente documento proporciona algunas ideas sobre el problema, desarrolladas con base en la bibliografía, que indican los riesgos para la planta de maíz nativo si se cultivan comercialmente transgénicos en México. Durante la transformación cada uno de varios transgenes se insertan al azar en loci del mismo o de diferente cromosoma, creando híbridos distintos; además, se usa cultivo de tejidos, con lo que se inducen mutaciones génicas y cromosómicas (variación somaclonal) que se transmiten juntos con el transgén. La siembra de estos híbridos en el país ocasionaría un flujo masivo de distintos transgenes a las diversas razas de maíz nativo mediante la polinización. Esta dispersión de transgenes ocasionaría un incremento constante y cada vez más intenso de transgenes, imposibles de eliminar, y de mutantes mediante el proceso de cruzamiento y de recombinación meiótica y daría lugar a dos tipos de dispersión: a) transgén individual genómico, y b) agrupaciones de transgenes ligados en serie. Con el surgimiento de la epigenética, ahora se conoce el silenciamiento de genes y una de sus causas, la homología, se propicia con el incremento de transgenes con el consecuente daño a las plantas, ya que permite la homocigosis de recesivos letales e inviabilidad de individuos. Esto ocurriría en cada generación de cultivo y las poblaciones irían degradándose y perdiendo capacidad productiva y reproductiva hasta sucumbir. México quedaría prácticamente sin maíz nativo y tendría que importar y cultivar transgénicos para producir el grano requerido por el consumo nacional; con ello, se afectaría a la tradicional cocina mexicana. La mejor y quizás única forma de evitar este final es no sembrar absolutamente ningún maíz transgénico en México.

Palabras clave: Acumulación de transgenes, flujo génico, genes endógenos, maíz nativo, maíz transgénico, mutaciones génicas y cromosómicas, silenciamiento de transgenes.

SUMMARY

It is known that Mexican native maize is contaminated by transgenes, but it is not known whether these transgenes damage the plants of this crop; thus, research is needed in this regard. This document provides some ideas on the problem, developed on the basis of literature, which indicate the risks for native maize if transgenics are grown commercially in Mexico. During transformation each of several transgenes are inserted randomly into loci on the same or on a different chromosome, creating different hybrids; in addition, tissue culture is used, thereby inducing gene and chromosomal mutations (somaclonal variation) that are transmitted along with the transgene. Planting these hybrids in the country might cause a massive flow of different transgenes to the various races of native maize through pollination. This transgene dispersion would cause a constant and increasingly intense accumulation of transgenes, imposible to eliminate, and of mutants through the process of crossing and meiotic recombination and would give raise to two types of dispersion: a) genomic individual transgene, and b) clusters of serially-linked transgenes. With the emergence of epigenetics, gene silencing is now known, and one of its causes, homology, is favored by the increase in transgenes, with the consequent damage to plants, since it allows homozygosity of lethal recessive alleles and non-viability of individuals. This would occur in each crop generation and populations would gradually degrade and lose productive and reproductive capacity until they succumb. Mexico would be left with practically no native maize and it would have to import and grow transgenic crops to produce the grain required for national consumption; with this, the traditional Mexican cuisine would be affected. The best and perhaps the only way to prevent this outcome is to plant absolutely no transgenic maize in Mexico.

Index words: Gene and chromosomal mutations, gene flow, native maize, transgene accumulation, transgene silencing, transgenic maize.

INTRODUCCION

En el año 2001 Quist y Chapela encontraron evidencia de que las poblaciones de maíz en el norte de Oaxaca estaban contaminadas con transgenes. Al principio no se les dio crédito, pero nuevos estudios en el mismo sitio y en otras regiones de México han confirmado la veracidad de esa información (Álvarez-Buylla y Piñeyro, 2013; De Ita 2012; Mercer y Weinwrite, 2008; Piñeyro-Nelson *et al*., 2009a; Serratos-Hernández *et al*., 2007; Turrent-Fernández *et al*., 2009); sin embargo, estos hallazgos no aportan evidencia acerca de cambios fenotípicos dañinos para las plantas del maíz nativo. Siendo esto así, proyectar futuros experimentos para conocer posibles inconvenientes del flujo genético de los transgenes al maíz nativo sería difícil en cuanto a la definición de objetivos y metodología a seguir.

Ante esta situación, en el presente documento se hace una revisión de literatura sobre el tema, y ha sido posible

Recibido: 11 de julio de 2021
Aceptado: 25 de julio de 2021

desarrollar algunas ideas, hipotéticas por el momento, que pueden servir de base para su posterior corroboración experimental. El objetivo del presente artículo es proponer tales ideas hipotéticas en el sentido de que introducir maíz transgénico como cultivo comercial a México no sólo dañaría al maíz nativo, sino que ese daño tendería a ser acumulativo, lo que podría llevar a este cultivo a una condición de improductividad progresiva tal que, con el tiempo, las poblaciones de maíz nativo se asemejarían a las de una especie en extinción.

Dinamismo del maíz en México

Aunado a la diversificación racial primordial (Kato, 1984; Kato *et al*., 2009; McClintock, 1978; McClintock *et al*., 1981), se conoce que la distribución del maíz en México es muy amplia, por lo que la variación se incrementó produciendo no sólo la diversidad dentro de cada raza sino también entre razas mediante poblaciones intermedias entre ellas. El mecanismo de este proceso de diversificación es el siguiente: a) los productores mexicanos tradicionales acostumbran sembrar en sus parcelas diversas variedades, inclusive de varias razas, como un seguro contra las variaciones ambientales; b) ellos también mueven la semilla del maíz mediante intercambio entre comunidades por venta o donaciones. Este movimiento de semilla muchas veces se lleva a cabo a grandes distancias; por ejemplo, cuando los agricultores viajan y visitan ferias agrícolas o mercados locales, cada vez que encuentran semilla de maíz que les llama la atención, llevan muestras a sus lugares de origen con el objeto de probarlas en sus terrenos. Esto ocasiona cruzamientos con sus variedades locales, que con frecuencia resultan en combinaciones favorables, los comienzan a adoptar y siguen cultivándolos junto con sus variedades locales. Así, el germoplasma del maíz está constantemente en proceso de hibridación y selección; es decir, de evolución (Bellon y Brush,1994; Louette, 1996; Louette *et al.* 1997; Louette y Smale, 2000).

Diferencias entre maíz transgénico y nativo

Como es de esperar, por ser el maíz nativo una especie típicamente alógama, sus poblaciones contienen una gran cantidad de genes recesivos que son letales o que expresan una viabilidad variable. Usualmente las líneas endogámicas de poblaciones nativas ya probadas se transforman en transgénicas y, de esta manera, son las que se usan para la producción de híbridos transgénicos comerciales, que ahora poseen genes (transgenes) que les dan ventajas adicionales como resistencia a plagas y herbicidas especiales, que actualmente se cultivan en grandes extensiones en muchos países del mundo. De esta manera, todo el maíz transgénico comercial que existe se encuentra en un genoma de maíz del cual se han eliminado los alelos recesivos letales de muchos genes. Esta gran diferencia entre el maíz transgénico y el nativo implica que no sería igual observar el comportamiento de los transgenes en campos sembrados con híbridos transgénicos y tradicionales; por ejemplo, de los Estados Unidos de Norteamérica donde ya no se cultivan las variedades de maíz nativo que existieron en épocas pasadas y prosperaron por las etnias que poblaban esos territorios. En los dos casos, aun cuando hay contaminación entre ellos, no hay consecuencias posteriores, ya que cada año se hacen siembras con semilla nueva y toda la contaminación se canaliza al mercado, tanto de la cosecha de transgénicos como de la no transgénica.

La situación es completamente diferente en México, donde la mayoría del maíz es nativo (excepto los híbridos convencionales que se han sembrado en las últimas décadas) y existe una gran variación genética, seguramente con gran cantidad de genes recesivos con letalidad variable, que se encuentran en condición heterocigótica. Por otro lado, la constante creación, aunque en frecuencias muy bajas, de mutaciones genéticas espontáneas, generalmente recesivas, permite que se substituyan las variantes alélicas que se van perdiendo por homocigosis inducida por el proceso natural de alogamia y, de esta manera, se mantiene la gran variación fenotípica racial y varietal del maíz en México (Acosta-D., *et al.*, 2014; Aragón *et al.*, 2006; Hernández y Alanís, 1970; Herrera *et al*., 2004; Ortega, 2003; Ortega *et al.*, 1991; Ortega y Sánchez, 1989; Preciado y Montes, 2011; Sánchez *et al.*, 2000; Rocandio *et al*., 2014; Wellhausen *et al*., 1951).

Los híbridos convencionales que se siembran en México no constituyen un problema porque desde el punto de vista genético no contienen genes extraños (actualmente sólo genes tipo *Cry*, introducidos en los llamados variedades *Bt* de resistencia a insectos o genes *EPSPS CP4*, introducidos en las variedades llamadas RR, que confieren resistencia a glifosato), genes que provienen de otros organismos de distintas especies, géneros, familias y aún grupos taxonómicos superiores y transferidos al genoma de maíz, que solamente está conformado por el complejo genético que tradicionalmente posee la especie.

Estas diferencias son las que hacen que la introgresión con transgenes podría presentar riesgos de afectación a las poblaciones de maíz nativo en caso de permitir la entrada libre de maíz transgénico como cultivo comercial en México. Existen evidencias de que las poblaciones de maíz nativo se encuentran contaminadas con transgenes, empezando con el trabajo de Quist y Chapela (2001) y seguido por otros como los de Bellon y Berthaud (2004), Serratos *et al.* (2004, 2007), Mercer y Weinwright (2008), Dyer *et al.* (2009) y Piñeyro-Nelson *et al.* (2009b), entre otros.

TRANSGÉNESIS: PROCESO DE TRANSFORMACIÓN

Cultivo de tejidos y variación somaclonal

En los cultivos de células y tejidos en medios artificiales, de los cuales se regeneran plántulas en diferentes especies (una clase de reproducción vegetativa), las plántulas pueden tener una morfología normal. o aparentemente normal, pero generalmente muestran lo que se denomina como variación somaclonal; es decir, contienen una gran variación de modificaciones epigenéticas, muchas de ellas transmisibles a generaciones posteriores, y que con frecuencia se mantienen en esas generaciones; sin embargo, también pueden presentar anormalidades morfológicas y reproductivas como son plantas deformes, semillas que no germinan o que si lo hacen mueren durante diferentes etapas de crecimiento, esterilidad, silenciamiento de genes, etc. Las mutaciones pueden ser ocasionadas por diversas causas como: a) debido a que los componentes de los medios de cultivo como sales, azúcares, minerales, hormonas, aminoácidos, etc., funcionan como factores mutagénicos; b) el pH de los medios también es importante para causar modificaciones genéticas; c) otro factor que es importante es la heterocromatina, que generalmente se duplica tardíamente, y la división celular ocurre más temprano, lo que ocasiona la formación de puentes y fragmentos acéntricos y, como consecuencia, resultan nuevas uniones cromosómicas que conducen a la formación de aberraciones cromosómicas; d) aún más, hay la posibilidad de formación de estas aberraciones por la reactivación de transposones, que están silenciados, por ejemplo en los nudos cromosómicos en maíz, que causan rompimientos cromosómicos y por ende dichas aberraciones; y e) la reactivación de transposones y retrotransposones también pueden acarrear diversas mutaciones génicas (D'Amato, 1991; Duncan, 1997; Hang y Bregitzer, 1993; Jain, 2001; Kaeppler *et al*., 1998; 2000; Kohli *et al*., 2010; Latham *et al*., 2006; Lee y Phyllips, 1988; McClintock, 1951; 1980; 1984; Mehlo *et al*., 2000; Sala *et al*., 2000; Stelpflug *et al*., 2014).

Proceso de transformación

Un transgén es un gen que se inserta en el genoma de un organismo y que proviene de otro completamente distinto, de cualquier nivel taxonómico, microorganismo, planta o animal, incluyendo al humano. Un organismo con un transgén es un organismo transgénico. Los dos métodos más usados de inserción de transgenes se describen en seguida:

Método de *Agrobacterium tumefaciens*

Este es el método biológico de transferencia (Darbani *et al*., 2008). El plásmido Ti es desarmado; es decir, contiene los genes *vir* incapacitados para inducir los tumores que usualmente produce *Agrobacterium*, que se obtiene de poblaciones de esta bacteria en las que existe en baja frecuencia. Lo primero que es necesario hacer es integrar el gen de interés (ADN de transferencia, o T-DNA en inglés) en *Agrobacterium tumefaciens* y esta bacteria, así modificada, es la que se usa para integrar el ADN de transferencia a las células de la planta hospedera. El ADN de transferencia se construye dentro de un plásmido Ti desarmado de la bacteria y consta del gen de interés, su promotor y su terminador, los cuales están limitados por dos segmentos de ADN de 25 pb cada uno, los bordes derecho e izquierdo; actualmente, el gen de selección se localiza en otro plásmido Ti de *Agrobacterium*, independiente del de ADN de transferencia, con el fin de facilitar la eliminación del gen de selección por segregación meiótica una vez obtenida la planta transgénica y a esto se le llama sistema binario de transformación. Obtenido el vector ADN de transferencia, se procede a integrarlo al cromosoma de *Agrobacterium* mediante co-cultivo de la bacteria y el vector de ADN. Se infecta el cultivo del tejido de la planta (se ha encontrado que el cultivo más efectivo es el de células de embriones en suspensión, en el caso de maíz, porque producen más células embriogénicas y se recuperan más plantas transformadas) y las células hospederas lesionadas por la bacteria producen señales, generalmente fenoles y ciertos azúcares, que llegan al ADN de transferencia y se inicia la siguiente etapa. En esta etapa el ADN de transferencia interactúa con los diversos genes *vir* y es transportado a la célula de la planta para ser introducido en ella. Las células embriogénicas al ser lesionadas por la bacteria producen señales, que al ser recibidas por *VirA* y *VirG*, inducen la asociación del ADN de transferencia con *VirD1* y *VirD2*, y éstas provocan el rompimiento de la hebra T; éste se cubre de moléculas proteicas específicas de varios *vir* formando el complejo-T que evita la desintegración de la hebra de transferencia hasta llegar al núcleo de la célula receptora, donde ocurre la integración de la hebra de transferencia al cromosoma de la planta (Azpiroz-Leeman y Feldman, 1997; Gould *et al*. 1991; Hellens y Muilineaux, 2000; Ishida *et al*., 1996; Tinland, 1996; Yadava *et al*., 2017; Zambryski, 1988; 1992)

Método de biobalística

Este método es de transformación de tipo físico, no biológico (Darbani *et al*., 2008), consiste en lanzar a grandes velocidades el gen de interés hacia las células que se quieren transformar. En este trabajo se incluye el método del protoplasto porque la vía de transporte del gen de interés a las células por transformar es el biobalísico. El ADN puede ser la molécula del gen de interés o éste forma parte de un plásmido vector. En el primer caso

hay desventajas, el equipo necesario es costoso, ocurre fragmentación y reorganización del ADN introducido, mayor número de integración de lo introducido y co-integración entre el gene de interés y partes del plásmido vector. El ADN de transferencia, ya sea en forma de plásmido vector o solo, se coloca en la superficie de partículas de tungsteno o de oro y éstas se lanzan a gran velocidad, mediante aparatos especiales, hacia las células en cultivo de la planta que se desea transformar; así, el ADN de transferencia atraviesa paredes (excepto cuando las células receptoras son protoplastos) y membranas celulares (incluidas las nucleares que son dobles) hasta entrar en contacto con el genoma al que se integra, lográndose la transformación. El proceso de transformación así descrito luce muy sencillo y simple; sin embargo, es mucho más complejo porque deben tomarse en consideración diversos aspectos como los siguientes para tener éxito: a) la velocidad de lanzamiento de las partículas tiene efectos variables en la producción de plantas transgénicas; b) el metal debe ser químicamente inerte para evitar reacciones adversas con el ADN o componentes celulares y se permita una óptima disociación del metal-ADN una vez que las partículas cubiertas entren a la célula por transformar; el tungsteno y el oro son los más usados; c) el tamaño de las partículas es muy importante en la variación de penetración a través de paredes y membranas celulares que debe ser no letal; y d) factores biológicos como la naturaleza de los explantes y las condiciones pre- y post-bombardeo de los cultivos celulares (Birch y Franks, 1991; Chrystou, 1992; Gordon-Kamm *et al*., 1990; Hansen y Chilton 1996; Kemper *et al*., 1996; Klein *et al*., 1989; Register III *et al*., 1994; Songstadt *et al*., 1996).

Una vez lograda la transformación, las células se transfieren a un medio que contiene el antibiótico o la proteína de selección (*e.g.* canamicina, herbicida, etc.) y las que sobrevivan serán las que han sido transformadas; es decir, las que contienen transgenes en sus cromosomas. Ahora, estas células transformadas se cultivan en medios que inducen la regeneración de nuevas plántulas, las que mediante técnicas moleculares especiales (PCR y Southern blot) se identifiquen como aquellas que solamente contengan un transgén en sus células. Algunas de estas plantas serán las que posteriormente formen las líneas que servirán en la formación de los híbridos que lleguen a las siembras comerciales. Las diferentes líneas así seleccionadas, aun cuando contengan un solo transgén, es muy probable que éste se encuentre insertado en distintos loci en el genoma de las líneas; es decir, los transgenes se insertan al azar en los cromosomas del genoma, independientemente del método usado para la transformación (Hernández *et al*., 2003).

La inserción de un transgén en el genoma de la planta de maíz inevitablemente desorganiza la secuencia del ADN genómico al separar a los genes entre los cuales ocurre la inserción. Así, el mismo transgén puede quedar insertado en los cromosomas de la siguiente manera: en una línea puede estar localizado en un locus del brazo corto, otra línea puede tenerlo en un locus del brazo largo, y en una tercera línea el transgén podría estar localizado en el brazo largo del mismo cromosoma, pero en un *locus* distal o proximal con respecto al de la segunda línea, etc. La misma situación ocurriría si el transgén se insertara en cualquiera de los nueve cromosomas restantes del maíz. Por esta razón los diferentes híbridos de diversas empresas y, aún de la misma empresa, pueden ser diferentes en este aspecto, dependiendo de la línea que se utilice para formar un híbrido dado. Esto conduce a que diferentes empresas utilicen el mismo transgén y hagan sus propias transformaciones y selección de sus líneas para desarrollar varios híbridos de su propia manufactura. Esta variación de localización transgénica es de lo más importante a tomarse en cuenta cuando se trate de la contaminación del maíz nativo y acumulación de transgenes, como posteriormente se discutirá.

Por otro lado, la mayoría de los investigadores que han experimentado con estos métodos de transformación han mencionado que son métodos precisos y que el maíz transgénico producto de ellos no implica riesgo alguno ni para las poblaciones del maíz ni para el hombre y los animales que se alimentan con este cultivo; sin embargo, en la amplia revisión bibliográfica hecha por Latham *et al*. (2006), y Wilson *et al*. (2004, 2006) encuentran que esa suposición no es correcta porque el proceso de transformación, a la par que inserta el transgén, éste se acompaña de mutantes inesperados como segmentos de ADN de la planta hospedante, varias mutaciones cromosómicas como translocaciones, inversiones, duplicaciones, deficiencias y mutaciones génicas inducidas por el evento de trasformación, que son de dos tipos generales: a) las asociadas al T-ADN, que son causadas por el evento de inserción y b) las independientes del T-ADN, que son mutaciones genómicas inducidas por varios factores como el cultivo de tejidos, entre otros. Estas mutaciones, al ser transmitidas por los híbridos transgénicos a las poblaciones nativas de maíz, podrían ser motivo de diversos riesgos para ellas, por lo que los evaluadores deberían ser estrictos y obligar a las empresas semilleras a eliminar, al máximo posible, muchas de las mutaciones antes de someter las semillas a evaluación y conceder los permisos para cultivarlas comercialmente.

Schouten y Jacobsen (2007) consideran que la serie de mutaciones génicas y cromosómicas mencionados en el párrafo anterior no pueden ser dañinas, ya que en las poblaciones nativas de maíz y de otros cultivos

se han producido, espontáneamente o inducidas por radiaciones o substancias mutagénicas, y se han usado en el mejoramiento de cultivos cuyos productos obtenidos y cultivados han sido alimento del hombre y del ganado y no han causado daño alguno por miles de años; entonces, según estos autores puede concluirse que lo propuesto por Latham *et al*. (2006) y Wilson *et al*. (2004; 2006) no es correcto; sin embargo, el autor del presente documento considera que los posibles mutantes que podrían ser transmitidos por híbridos transgénicos a las poblaciones de maíz nativo serían diferentes, aunque muchos sean similares o iguales a los espontáneos e inducidos, por su origen y modo de introducción al maíz nativo, y serían también distintos por su manera de comportarse en el nuevo ambiente genético de las poblaciones nativas. Un híbrido transgénico permitido para cultivarse comercialmente tendría un contenido variable de mutantes (es imposible dar números, pero pueden ser muchos, tal vez decenas o cientos), unos ligados estrechamente al transgén integrado y otros independientes del locus de integración y dispersos en el genoma; si este transgénico se cultiva por muchos años en una región dada, en cada generación de cultivo todo el grupo de mutantes sería depositado junto con el transgén en las poblaciones del maíz nativo; así, cada generación sumaría al del ciclo anterior y de esta manera todos los mutantes incrementarían su frecuencia al mismo tiempo, mientras en la región se cultive el mismo híbrido transgénico. De esta manera, la co-adaptación de cada uno de los mutantes al ambiente genético de las poblaciones nativas tendrían dificultades para lograrlo y las poblaciones podrían entrar a un estado de caos genético porque sería como si en cada generación se incrementara la necesidad de aumentar la velocidad de eventos co-adaptativos (de remediación), lo que podría ser explicado como sigue: el genoma de las poblaciones en cuestión perdería gradualmente la capacidad de enfrentarse a la presión de tantos mutantes tan diversos que en cada generación de cultivo entrarían a las poblaciones; en cambio, en las poblaciones nativas de forma natural las mutaciones se van originando y co-adaptándose gradualmente porque a) en cada generación las mutaciones ocurren en muy baja frecuencia, y b) así pueden disponer del tiempo requerido para su co-adaptación al genoma. Bajo esta óptica, las propuestas de Latham *et al*. (2006) y Wilson *et al*. (2004; 2006) son correctas. Como en cada región se cultivarían varios híbridos transgénicos y como cada uno de ellos llevaría un conjunto diferente de mutaciones, el proceso arriba descrito resultaría más complejo y mucho más riesgoso.

Formación de transgénicos múltiples

Hasta aquí se han considerado solamente a los trangénicos que poseen un solo transgén; esto es, RR o cualquier variante de *Bt* (los genes *Cry*); sin embargo, desde hace algunos años se ha estado experimentando con transgenes múltiples; es decir, aquellos que contienen varios genes de interés que codifican para diferentes caracteres que otorgan ventajas a los organismos transformados y que todos están presentes en cada uno de ellos. Lo más fácil y rápido para obtener transgénicos múltiples con la tecnología actual es la de cruzar líneas de maíz con distintos transgenes individuales y formar, primero, un híbrido con dos construcciones; posteriormente, este doble transgénico se cruzaría con otro híbrido para tener uno con tres transgenes y, así sucesivamente se realizarían las hibridaciones necesarias para integrar en un individuo los transgenes deseados; esto es lo que se llama estrategia o proceso iterativo (Dafny-Yelin y Tzfira, 2007; Halpin, 2005; Peng, *et al*., 2014; Que *et al*., 2010; Taverniers *et al*., 2008). En la actualidad se tienen al menos una docena de híbridos comerciales en maíz con dos y hasta cuatro transgenes distintos, combinaciones entre el gen *EPSPS-CP4* de líneas RR y diferentes variantes *Cry* de Bt obtenidos mediante eventos iterativos (Que *et al*., 2014); sin embargo, estos híbridos obtenidos mediante procesos iterativos tienen la desventaja de que por no tener ligados los trangenes apilados, en sus primeros cruzamientos en el proceso de formación de los híbridos, los diferentes transgenes tenderían a segregar meióticamente, lo cual ocasionaría problemas para mantener juntos a los diferentes trangenes; esto es, en las generaciones avanzadas habría que trabajar con grandes poblaciones de progenies con el fin de identificar aquellas que retienen todos los transgenes apilados en una misma planta.

Otra modalidad es la denominada co-tranformación, que consiste en que varios transgenes se insertan simultáneamente en un solo locus cromosómico. Lo ideal de estos transgénicos múltiples, es que además de tener los diferentes transgenes juntos en cada individuo, dichas construcciones deben estar concatenadas, unas seguidas de las otras y localizadas en un locus específico de los cromosomas; esto es, íntimamente ligados entre sí, aspecto que es difícil de obtener con la tecnología molecular actualmente disponible. Parece que aún tomará algún tiempo para que se logren híbridos comerciales con las características ideales (Dafny-Yelin y Tzfira, 2007; Halpin, 2005; Peng *et al*., 2014; Que *et al*., 2010; Tavernier *et al*., 2008; Yau *et al*., 2013).

Entre las metodologías tendientes a insertar diferentes transgenes en un locus deseado están: a) la de formar minicromosomas; es decir cromosomas artificiales con todos los transgenes asociados en él y, por lo tanto, no modifica el genoma normal del cultivo (Yu *et al*., 2007) y b) el método que usa SSR (Site-specific recombination) (Srivastava y Thompson, 2016), TALENs (Yau *et al*., 2013) y

CRISPR/Cas9 (Manghwar *et al*., 2019) para lograr obtener transgénicos múltiples. No obstante, estas metodologías aún tienen el inconveniente de que para lograr la transformación múltiple de transgenes localizados en un solo locus es necesario utilizar el cultivo de tejidos para insertar los transgenes, uno por uno, y recuperar en cada paso las plantas transformadas con un transgén más. Como se ha explicado anteriormente, el cultivo de tejidos ocasiona variación somaclonal, y consecuentemente los nuevos híbridos contendrían diversas mutaciones y aberraciones cromosómicas que podrían causar los mismos daños ocasionados por los transgenes individuales distribuidos al azar en el genoma del maíz, pero posiblemente de forma más compleja y drástica, porque en cada evento de inserción de un nuevo transgén se adicionarían mutaciones somaclonales de nuevo cuño (Yau *et al*., 2013).

Desde el punto de vista del mejoramiento genético parece muy convincente poder integrar simultáneamente varios transgenes ligados entre sí y localizados en un solo locus cromosómico; se comportarían como un gen simple, o supergen, con muy baja frecuencia de segregación, lo que haría más sencilla la introgresión y conversión de líneas endogámicas; sin embargo, la construcción de este complejo de caracteres múltiples muestra varias limitaciones, como el diseño y ensamblaje del vector, la transformación y el análisis de la expresión génica. Aun cuando existe un número razonable de promotores, no se sabe la respuesta que puede ocurrir cuando se combinan en un conjunto. Conforme se incrementa el tamaño del T-ADN se hace más difícil el diseñar la estructuración del único locus de inserción. Toda esta complicación ha resultado en la necesidad de hacer vectores de trasformación más eficientes, que sean apilamientos moleculares de menor tamaño con transgenes de expresión similar y enviarlos en combinaciones en los procesos de transformación, en lugar de ponerlos todos juntos. De esta forma habría más flexibilidad de combinación cuando se quieran enviar los productos que se adecuen a las necesidades de diferentes regiones (Halpin, 2005; Que *et al*., 2010; 2014).

Anormalidades cromosómicas por inserción transgénica

La inserción transgénica se lleva a cabo mediante una compleja interacción entre los bordes derecho e izquierdo del T-ADN y los extremos libres del genoma en su punto de inserción, según modelos desarrollados por Gheysen *et al*. (1991), Koncs *et al*. (1992), Mayerhofer *et al*.(1991) y Tinland (1996). Esta compleja interacción proporciona evidencia de que en el evento de integración del transgén en los cromosomas de las plantas está involucrado un proceso de recombinación ilegítima. También se han observado casos más complejos de integración de transgenes, tales como deficiencias, duplicaciones e inversiones en los extremos de los transgenes o secuencias genómicas de origen desconocido y asociados con los transgenes y el ADN genómico (Gheysen *et al*., 1991; Ohba *et al*., 1995).

Según Kohli *et al*. (2010), muchos de los transgenes integrados poseen modificaciones estructurales menores difíciles de detectar con los métodos de poca resolución como la hibridación del Southern blot y FISH, por lo que deben usarse métodos de alta resolución como la secuenciación de ADN; entonces, el impacto que puedan tener las modificaciones cromosómicas sobre los transgenes, principalmente sobre genes vecinos, es desconocido; es decir, no se sabe sobre factores importantes como el efecto de posición que refleja la influencia del ADN endógeno a ambos lados del sitio de integración. La formación de modificaciones estructurales de los cromosomas también podría ocurrir por apareamiento no homólogo de cadenas largas que resultarían mediante la duplicación espontánea de transgenes en diferentes cromosomas (Figuras 1 y 3; Kato-Yamakake, 2004).

Silenciamiento de transgenes

La co-supresión es un tipo de silenciamiento que consiste en una represión coordinada (con frecuencia también reactivación coordinada) de un transgén y un gen endógeno homólogo o dos trangenes homólogos (Matzke y Matzke, 1995).

La importancia de las secuencias homólogas en la inducción del silenciamiento transgénico se observa cuando está presente un segundo transgén que presenta homología con uno previamente insertado, ocasionando su inactividad en la región del promotor. A pesar de que son inactivadas copias simples, en el caso de integración de copias múltiples la eficiencia de la inactivación se incrementaría, especialmente si las secuencias se insertan concatenadas, y los transgenes homólogos son alélicos o no están ligados (Meyer y Saedler, 1996).

Estos fenómenos de silenciamiento génico dependientes de la homología son caracterizados por una relación inversa entre el número de copias de una secuencia específica y su magnitud de expresión. El silenciamiento génico transcripcional frecuentemente está asociado con el incremento de la metilación, sobre todo en promotores, que es heredable mitótica y meióticamente. El silenciamiento génico postranscripcional involucra la degradación de secuencias específicas del ARN mensajero que ocurre predominantemente, pero no exclusivamente, en el citoplasma. En muchos casos de silenciamiento génico post-transcripcional, las regiones transcritas de transgenes son metiladas; sin embargo, esta metilación

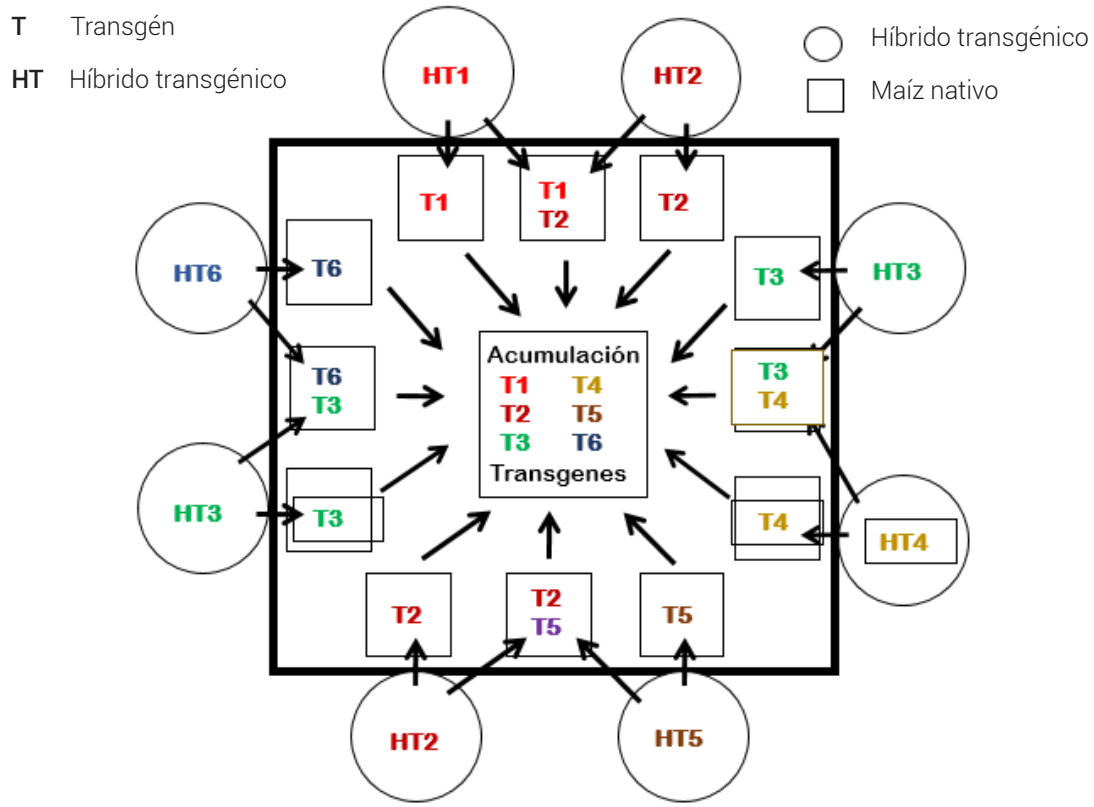


Figura 1. Proceso general de contaminación del maíz nativo por diversos transgenes si los híbridos transgénicos son sembrados en los campos de México.

usualmente no conduce a silenciamientos meióticamente heredables, y queda incierto el papel del silenciamiento génico post-transcripcional (Matzke *et al*., 2000). El silenciamiento de transgenes es un fenómeno bien documentado y puede ocurrir por diversos mecanismos; por lo tanto, las variedades e híbridos transgénicos usualmente contienen copias funcionales y no funcionales del mismo transgén (Smith *et al*., 2001).

En vista de que no se ha detectado una relación positiva entre el número de copias del transgén y su expresión en eventos individuales, es muy posible que existan otros factores que influyen en el silenciamiento de esas construcciones, como la metilación, resultando en ADN modificado por cromatina estructural en áreas vecinas al locus de inserción del transgén (Shou *et al*., 2004).

Los experimentos de transformación indican que la inserción de transgenes múltiples induce el silenciamiento de esas construcciones, con frecuencia asociada con la co-supresión de genes endógenos homólogos. Esta inactivación de transgenes también puede suceder mediante dos eventos sucesivos, a nivel de transcripción o de post-transcripción (Kohli *et al*., 2010).

Los efectos epigenéticos de silenciamiento se logran mediante una variedad de mecanismos moleculares que conducen a la expresión génica, éstos incluyen modificaciones en las histonas de los nucleosomas, cambios en la estructura cromatínica de los cromosomas, metilación de ADN, ARN de interferencia, ARN no codificante y efectos de homología. Estos mecanismos se han observado en amplios grupos de organismos, desde levaduras hasta plantas y mamíferos, lo que sugiere que están ampliamente presentes y conservados desde el punto de vista evolutivo (McEachern, 2012).

El silenciamiento de genes en la fase de transcripción (SGT) puede ser ocasionado por efectos epigenéticos debido a que las histonas de la cromatina son metiladas y ésto induce que el promotor del transgén en el T-ADN sea silenciado, evitando que el ADN del transgén sea transcrito y, por ende, no se produzca proteína alguna; otra opción es que la cromatina del T-ADN se convierta en heterocromatina por condensación; en este evento la heterocromatina formada puede afectar a otro gene o genes cercanos al loci de inserción transgénica, y así, esos genes endógenos también sean silenciados simultáneamente al silenciamiento del transgén. Una vez que el transgén se ha transcrito y se forma el ARNm, éste puede ser silenciado

por producción de ARNi (ARN de interferencia) que lo inhibe o destruye, en silenciamiento post-transcripcional (SGPT) (Vaucheret *et al*., 1998). Anteriormente se consideraba que el SGT y el SGPT ocurrían siempre de forma independiente; sin embargo, ahora se tienen evidencias de que ésto no siempre es cierto; se han encontrado casos en que los factores que inducen el SGT, ARNi y proteínas se conservan hasta después de terminada la fase de transcripción, dando oportunidad de afectar al ARNi post-trancripcional, haciendo que el SGPT sea incierto o variable (Vaucheret y Fagard, 2001).

Proceso de contaminación de transgenes mediante polen y semilla

En páginas anteriores se ha mencionado que el maíz desde su origen y domesticación ha tenido una vida muy dinámica, acción que se ha mantenido hasta el presente. Si se toma en consideración dicho dinamismo, al permitirse el cultivo de híbridos transgénicos de forma comercial en México, es obvio que el maíz nativo sería contaminado de dos maneras: a) mediante el polen que fecundaría un sinnúmero de plantas nativas cultivadas en campos adyacentes a las de los híbridos transgénicos vecinos; y b) en muchos campos sembrados con híbridos transgénicos se deje de hacerlo, existiendo la posibilidad que en ese campo en algún momento vuelva a sembrarse maíz nativo y contaminarse por plantas provenientes de granos dejados por siembras transgénicas precedentes.

Habría muchas limitaciones para evitar que estas dos maneras de contaminación ocurran en la práctica, sin importar que teóricamente se haya definido una distancia determinada de separación entre parcelas de maíz nativo e híbrido y que sea cumplida como se establece en la ley. Por lo tanto, la contaminación del maíz nativo por transgenes, ya sea de forma anual o dos veces por año, sería un hecho irremediable si se revoca la acción preventiva de la moratoria de facto del cultivo de transgénicos en el territorio mexicano.

Los híbridos transgénicos serían cultivados en muchas regiones y campos del territorio mexicano, además de que las diversas semillas de las distintas empresas que las producen y comercializan contienen diversos transgenes distribuidos en distintos loci de los cromosomas del genoma del maíz. Se conocen decenas de híbridos transgénicos diferentes en el mercado: a) con un solo transgén RR resistente al herbicida glifosato y el que codifica resistencia a plagas *Bt* y sus variantes *Cry*; b) con dos y tres transgenes, combinaciones de las mencionadas en el punto anterior. Si llega el momento en que México permita el cultivo de maíz transgénico de forma comercial, estas combinaciones tendientes a apilar transgenes ocurrirían como se muestra de forma esquemática y simplificada en la Figura 1, diferentes híbridos transgénicos (círculos) se sembrarían en muchos sitios del país con semilla que proveniente de distintas empresas (HT1, 2, 3, etc. dentro de círculos) en campos vecinos sembrados con variedades de maíz nativo (cuadros pequeños); en cada región, estos híbridos contaminarían a las poblaciones nativas adyacentes mediante polinización, y algunas de estas poblaciones podrían ser contaminadas por más de un híbrido de tal manera que la población terminaría con diferentes transgenes (en la actualidad sólo dos transgenes RR y *Bt* con sus distintas variantes (*Cry1*, *Cry2*, etc.); a su vez, estas poblaciones intercambiarían los transgenes entre ellas (diferentes flechas) y posteriormente contaminarían, mediante la cadena de movimientos migratorios descritos en secciones anteriores, que finalmente formarían poblaciones contaminadas con todos los transgenes sembrados al inicio de la entrada de estos híbridos (Cuadro central, Figura 1). El tiempo requerido para llegar al final de este complejo flujo transgénico dependería de la rapidez e intensidad con la que interactúen las diferentes poblaciones y la tolerancia a la cantidad de transgenes contaminantes que pudieran mostrar distintas poblaciones en los diferentes ambientes regionales.

Acumulación de transgenes mediante procesos meióticos

Introducido el transgén a las células *in vitro*, mediante alguno de los varios métodos posibles, éstas se someten al proceso de selección de células transformadas en las que pueden ocurrir dos grupos de eventos: 1) al menos un transgén se encuentra en todas las células transformadas, insertado al azar en alguno de los cromosomas del genoma receptor y, además, puede haber copias adicionales en varios loci de uno o más cromosomas; esos loci pueden tener más de un transgén repetido en serie (Gordon-Kamm *et al*., 1990; Pellicer *et al*., 1980; Rhodes *et al*., 1988); 2) las copias adicionales pueden ser inactivadas por varios mecanismos que existen para detectar y controlar la invasión de ADN extraño; pero no todos los transgenes repetidos son inactivados (De Block *et al*., 1987; Kumpatla *et al*., 1998).

Se sabe de la existencia de duplicaciones génicas en vegetales y animales; el maíz no es la excepción, y se han identificado duplicaciones por apareamiento y recombinación entre cromosomas supuestamente no homólogos, originando nuevos alelos en el caso de los loci R y A que controlan la síntesis de pigmentos, o formando translocaciones en el maíz monoploide (Carlson, 1988). También existen duplicaciones en los genes de los ARN ribosomales 18S y 28S en miles de copias en serie en el organizador nucleolar del cromosoma 6 en maíz (Phillips *et al*., 1971). Lo anterior demuestra que las duplicaciones

no siempre son inactivadas en las poblaciones. En los organismos existen mecanismos mediante los cuales se induce la duplicación y amplificación de los genes (Kaessmann, 2010; Ohno, 1970; Reams y Roth, 2015); entonces, además de lo propuesto en párrafos anteriores, los transgenes individuales que se integran a las poblaciones nativas de maíz también podrían llegar a formar cadenas de diferente longitud.

Una vez que el maíz nativo haya sido invadido por transgenes y la frecuencia de éstos sea suficientemente alta, de manera que el cruzamiento entre plantas conteniendo transgenes sea frecuente, y esos trangenes provengan de híbridos formados por líneas con transformación independiente de varias empresas semilleras, éstos serían multiplicados adicionalmente como se muestra en la Figura 2. Debido a que cada híbrido transgénico lleva en sus células un solo transgén en loci de diferentes cromosomas, el maíz contaminado podría tener plantas conteniendo un número variable del mismo transgén, o si los híbridos poseen trangenes distintos, el número de cada transgén podría ser variable en clase y posición; así, cada transgén se encontraría por duplicado, triplicado, o en múltiplos superiores; sin embargo, es muy probable que también ocurra el incremento de transgenes mediante apareamiento no homólogo y recombinación de esos segmentos cromosómicos así asociados.

Lo más probable es que los híbridos de diferentes empresas semilleras aporten a la contaminación de las variedades nativas con el mismo transgén pero localizado en diversos loci cromosómicos; un híbrido dado podría tener la construcción localizada en el brazo largo del cromosoma 3 y otro híbrido, con el mismo transgén, pero en el brazo corto de ese mismo cromosoma 3. Si estas plantas llegan a cruzarse entre ellas formarían un bivalente doble heterocigote para ambos transgenes (Figura 2). Ahora, si ocurre una recombinación entre ellos, se formaría un cromosoma sin transgén y otro con dos transgenes; si la planta con el cromosoma 3 con dos transgenes se autofecunda o se cruza con otra planta semejante sería posible obtener plantas con cuatro transgenes, dos en cada cromosoma 3.

Si esta planta con cuatro transgenes se autofecunda o se cruza con otra semejante resultarían plantas con ocho transgenes iguales. Este proceso meiótico puede ocurrir entre cromosomas no-homólogos, (*i.e.* 3 y 5); se podrían formar plantas con el mismo número de transgenes iguales, pero ahora en dos cromosomas no-homólogos (Figura 2); de esta manera, se irían generando plantas con un número creciente de transgenes dentro de la misma población y situaciones semejantes en otras poblaciones.

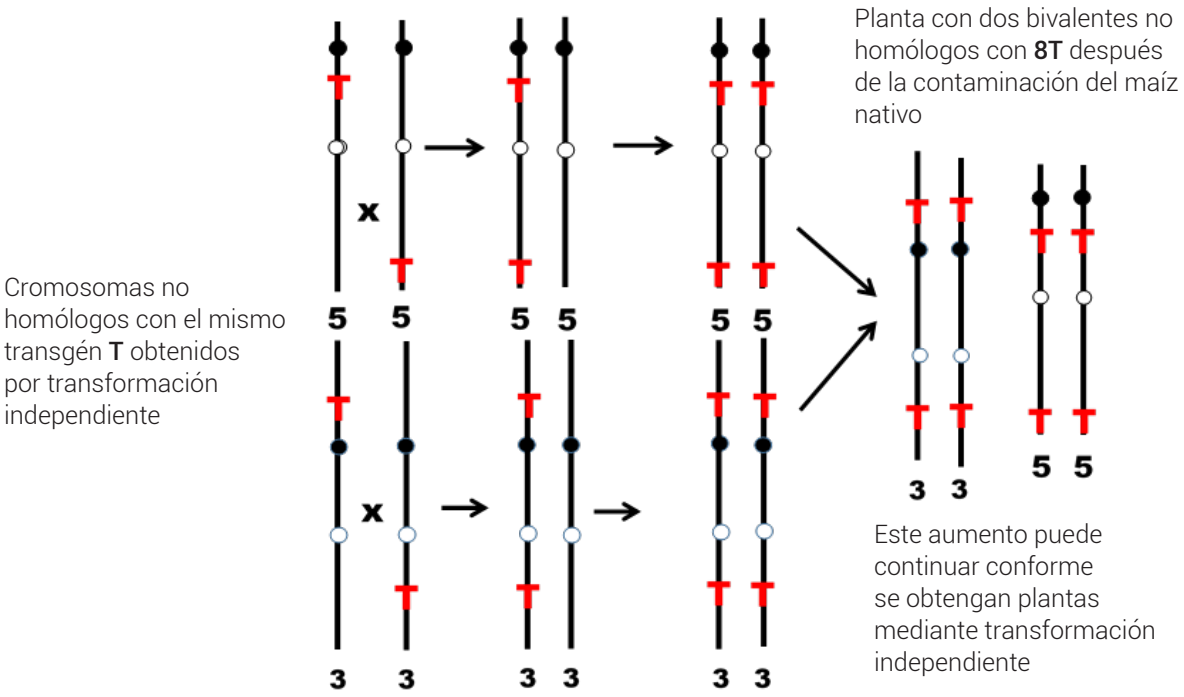


Figura 2. Aumento de transgenes T por recombinación en el maíz nativo contaminado por transgenes introducidos al genoma mediante transformación independiente.

De esta forma, dependiendo del número de híbridos sembrados en diferentes regiones del país, las poblaciones contaminadas podrían llegar a tener varios transgenes iguales localizados en diferentes loci y cromosomas. Si ocurren los distintos cruzamientos ejemplificados en la figura anterior y otras posibles combinaciones, resultaría la posibilidad de que un mismo transgén se multiplique a números muy elevados. Si con el tiempo se cultivan híbridos con distintos transgenes la cantidad de transgenes que podrían existir en el maíz del futuro sería inmenso. No se sabe cuál sería el umbral de frecuencia de transgenes que tolerarían diferentes poblaciones de maíz nativo, pero aquí solamente se muestra la forma en que ocurrirían los aumentos con el tiempo.

Otra posibilidad de incremento de transgenes es la de que éstos lleguen a formar cadenas en serie; es decir, transgenes ligados, muy próximos uno de otro en un mismo segmento cromosómico. El proceso por el cual estas cadenas de transgenes en serie se pueden formar es el siguiente (Figura 3): a) lo primero que debe ocurrir es que durante la transformación dos trangenes se localicen en loci muy cercanos en cromosomas homólogos de células diferentes, y sean seleccionadas para formar dos híbridos distintos; b) que estos cromosomas se encuentren en la misma población contaminada y que puedan juntarse en la misma planta por cruzamiento y produzcan plantas como las mostradas en la figura; c) que en el bivalente que se formaría ocurra un intercambio (recombinación) entre las cromátidas homólogas, lo que resultaría en una cromátida con dos transgenes ligados entre ellos, pero separados por un pequeño segmento de ADN endógeno que puede variar en longitud pero relativamente pequeño; esta cromátida con dos transgenes pasaría a ser parte de un gameto, masculino o femenino, que si fecunda a otro gameto formado por el mismo mecanismo daría una planta transgénica, ahora con dos transgenes iguales ligados en cada homólogo; es decir, una planta homocigótica para los dos transgenes.

DISCUSIÓN GENERAL

En las secciones precedentes se ha mostrado claramente que al permitirse la introducción de semillas de híbridos transgénicos al mercado para su comercialización y siembra en todo el territorio de México ocurriría un flujo general de transgenes mediante polinización, introduciendo estas construcciones a las poblaciones de las diferentes razas de maíz existentes en el país. Esta transferencia masiva se produciría cada año (en algunas regiones cada dos años) e iniciaría un proceso de acumulación constante en el maíz nativo, primero por el cultivo anual y, posteriormente, por el mecanismo meiótico de recombinación genética produciendo dos tipos de dispersión de transgenes en las poblaciones: a) dispersión general en el genoma de transgenes individuales y b) agrupaciones de transgenes íntimamente ligados en serie.

El uso del cultivo de tejidos durante el proceso de transformación y regeneración de plántulas transgénicas causa variación somaclonal, que implica la producción de muchas mutaciones génicas y cromosómicas dispersas

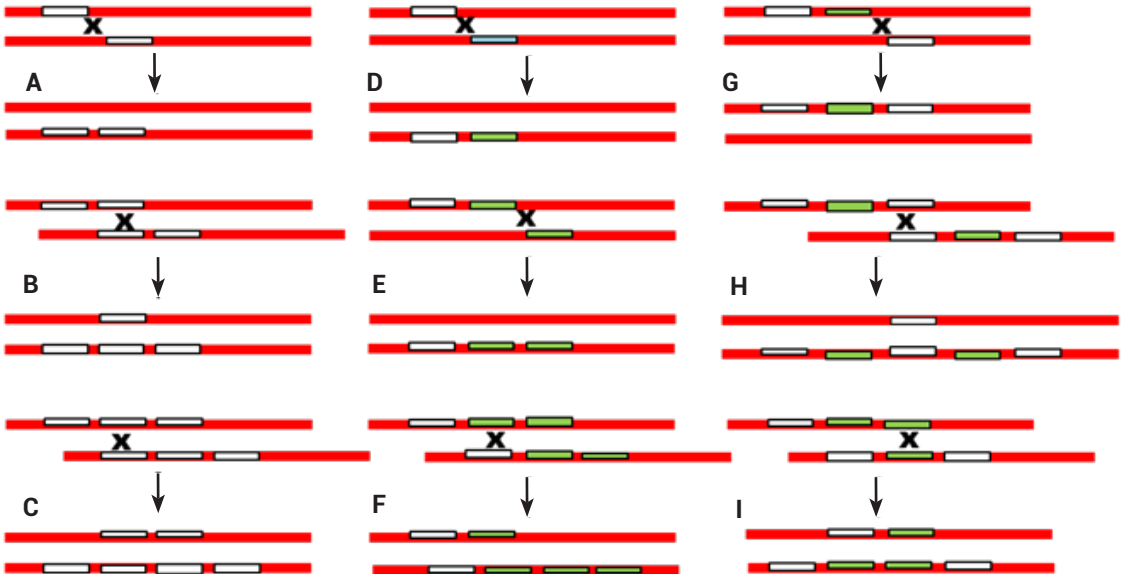


Figura 3. Proceso general de contaminación del maíz nativo por diversos transgenes si los híbridos transgénicos se siembran en los campos de México.

en el genoma y otras ligadas a los sitios de inserción de transgenes. Estas mutaciones también se incrementan a la par del incremento de los transgenes.

El incremento de transgenes y mutantes en los genomas traería como consecuencia eventos epigenéticos como el silenciamiento de genes y sus promotores, y modificaciones de interacciones intergénicas, ahora sí expresando los daños causados por todos los cambios hechos en el genoma. Como los transgenes acumulados no pueden ser eliminados, las consecuencias se presentarían indefinidamente y las poblaciones entrarían a etapas de degeneración, y con el tiempo llegarían a su extinción. Con esto queda explicada la gran diferencia entre cultivar maíz transgénico en un ambiente agrícola en que se siembren solamente híbridos convencionales (ejemplo típico, los Estados Unidos de América) y cultivar dichos híbridos en un ambiente donde predominan las poblaciones y razas nativas, como es México.

Por el momento, en México no es posible hacer investigación con plantas transgénicas, especialmente en el campo y, aún en invernadero, por la situación legal que existe debido a la conveniencia de no dar oportunidad de contaminar al maíz nativo; sin embargo, en la literatura se encuentra mucha información que podría llevar a reflexionar y tomar decisiones para evitar riesgos mayúsculos sobre nuestros maíces nativos y su futuro. No entender esto y actuar solamente considerando posiciones del extranjero sobre las bondades de los transgénicos resulta un absurdo (Druker, 2018). Aquí se hizo una parte de revisión de literatura existente y se ha llegado a proponer que no es prudente ni necesario el permitir cultivar transgénicos en México. Aún hay mucha información que desenterrar para moldear la mente y quedar convencidos de que esas construcciones "artificiales" no son buenas para la vida de los organismos, incluyendo al hombre y que se tiene que tomar otros caminos. México tiene la materia prima necesaria para salir avante por su propio esfuerzo, lo que falta es la voluntad para hacerlo. ¿Por qué en México se tiene un programa de adaptación de tecnología al que se le da gran importancia y no se piensa seriamente en dar más apoyo a la ciencia básica, siendo que es la única que puede desarrollar tecnologías nuevas? Se dice que la ciencia básica es muy costosa, pero ¿no es más costoso depender del extranjero importando millones de toneladas anuales de maíz amarillo (mezclado con transgénicos) que necesita el país para solventar la alimentación de ganado y requerimientos de la industria y de maíz blanco para la alimentación del humano? Esta situación es resultado de que el gobierno mexicano, desde hace muchos años no ha apoyado seriamente a la ciencia mexicana y ha preferido ser dependiente del extranjero creyendo que esa política es más cómoda y menos costosa; se sabe que es todo lo contrario, que esta política induce no sólo a la dependencia de alimentos sino también de muchas otras cosas.

Uno de los problemas que provocan las empresas que producen y comercializan híbridos transgénicos es que al registrar éstos ante los reguladores de los Estados Unidos, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA en inglés), no incluyen toda la información que caracteriza a los materiales transgénicos para que sean aprobados para siembra comercial como semilla sin riesgos futuros (Druker, 2018; Vallianatos y Jenkins, 2014). Wilson *et al.* (2004) y Latham *et al.* (2006) informaron que todas las variedades transgénicas aprobadas para su uso comercial muy probablemente contienen cientos o miles de mutaciones grandes y pequeñas, a nivel de genoma y anexas en los sitios de inserción de los transgenes, que no han sido reportadas. Todas estas mutaciones potencialmente tienen la capacidad de causar daños al genoma.

Si las empresas semilleras estadounidenses no han sido claras ante la FDA y a la EPA, entre otras dependencias gubernamentales, y esto lo ha permitido el gobierno de los Estados Unidos, implica que han hecho lo mismo con el pueblo de ese país con el fin de obtener la aprobación de los híbridos transgénicos para comercializarlos. Aquí es donde los diversos autores son una fuente importante de información, no sólo de ejemplos, sino también de las críticas, interpretaciones, puntos de vista de investigadores, expertos, y en general de la ciudadanía norteamericana.

Con esta información se infiere que la mayoría, si no es que todos los transgénicos comercializados no son confiables, como lo expresan las empresas semilleras. En el libro de Álvarez-Buylla y Piñeyro-Nelson (2013), y todas las referencias ahí dadas, claramente se explican los daños que pueden causar los transgénicos en la alimentación y en la salud humana y animal, en la ecología terrestre y acuática, temas que son de primera importancia. En este sentido, existen dos trabajos específicos que vale la pena mencionar, el de Séralini *et al*. (2014) que demuestran que el herbicida Roundup (glifosato) puede inducir tumores en mamas, hígado y riñones de ratas alimentadas durante dos años con alimento conteniendo este herbicida; de forma similar, la producción de EPSPS (enzima de la expresión del transgene del maíz NK603) puede dar origen a patologías comparables a los causados por el herbicida; este estudio es la primera documentación detallada de los efectos a largo plazo del consumo de un organismo genéticamente modificado, específicamente del grano de maíz tolerante al herbicida Roundup. El otro trabajo publicado se refiere a que alimentos preparados con maíz, como la tortilla, que son consumidas diariamente en grandes cantidades en México, se encontró que 90.4 % de

209 muestras analizadas contienen diversos transgenes; en general, en las muestras analizadas fueron detectados siete eventos transgénicos en diferentes frecuencias; estas y otras evidencias de presencia de transgenes existen no sólo en muestras de alimentos en México, sino también en diversos lugares del mundo (González-Ortega *et al*., 2017). Lo anterior significa que muchas personas, a nivel mundial, actualmente se encuentran consumiendo, directa o indirectamente, diversos transgenes y están bajo el riesgo de ser afectados en su salud. Este posible riesgo estaría incrementándose gradualmente de acuerdo con las posibilidades de contaminación y acumulación de transgenes, como se discute en el presente documento.

Lo preocupante de la situación en México es que existen autoridades, académicos y agricultores que, ya sea por falta de información o por dependencia interesada, están convencidos de las "bondades" de los transgénicos que las transnacionales difunden, y están totalmente de acuerdo por la anulación de la prohibición preventiva vigente.

A largo plazo la declinación del maíz nativo sería inevitable una vez que se introduzcan los transgénicos al cultivo comercial, primero por las razones dadas anteriormente y segundo porque una vez contaminadas las razas de maíz sería imposible eliminar dicha contaminación, no sólo de transgenes, sino de multitud de mutaciones génicas y de aberraciones cromosómicas que los acompañarían y que se formarían *de novo* dentro de las poblaciones contaminadas.

Por otro lado, México es un país montañoso y no tiene grandes superficies arables de terreno, como son las enormes planicies que Estados Unidos posee; entonces, no es posible que se elimine por completo al maíz nativo y sea substituido por transgénicos; simplemente, no ha sido posible cultivar los híbridos convencionales más que en 15 a 20 % de la superficie dedicada al cultivo de maíz, y ésto es porque alrededor del 80 % del terreno cultivable en México corresposponde a tierras de temporal; es decir, lugares de lluvia limitada y muy variable, con terrenos disparejos y sin posibilidades de riego (Cruz *et al*., 2010). Los híbridos transgénicos, como los híbridos convencionales, no están hechos para cultivarse en esas condiciones por la ausencia de variación genética; ésto lleva a reflexionar que de perderse la mayoría del maíz nativo, eternamente se estaría dependiendo de la importación de grano transgénico. ¿Cómo estar acorde con el uso tan variado que el mexicano hace de este cultivo, principalmente en el aspecto culinario al que se está acostumbrado regionalmente por milenios? ¿El mexicano podría vivir alimentándose con maíz transgénico uniforme? Se piensa que no. La gastronomía mexicana tradicional sería afectada y tendería a desaparecer. La manera de evitar que se pierda el maíz nativo, como ha sido explicado, es no permitir la siembra de maíz transgénico y mantener vigente tal medida indefinidamente.

CONCLUSIÓN

Si México decide en algún momento permitir la entrada libre de híbridos transgénicos de maíz para su cultivo comercial en el país, se podría esperar el inicio de la extinción del maíz nativo a largo plazo y, la pérdida de la cultura del maíz y la variada gastronomía mexicana. Aun cuando las inferencias del presente trabajo representan riesgos potenciales teóricos, éstos son de alta factibilidad, por lo que se recomienda hacer el mayor esfuerzo porque se establezca de forma definitiva y permanente una legislación preventiva de no cultivar maíz transgénico en todo el territorio mexicano, en sustitución de leyes y reglamentos, a fin de imprimir un sentido realista de la situación maicera histórica y nacional.

AGRADECIMIENTO

El autor agradece al Dr. Víctor González Hernández, profesor investigador titular del Programa de Genética del Colegio de Postgraduados, por haber leído y editado algún manuscrito previo del presente artículo, haciéndolo más legible y entendible antes de ser enviado a la revista para su revisión por pares, y su posible aceptación para publicación; sin embargo, los conceptos y argumentos vertidos en este artículo son totalmente responsabilidad del autor.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta-Díaz E., F. Zavala-García, J. Valadez-Gutiérrez, I. Hernández-Torres, M. D. Amador-Ramírez y J. S. Padilla Ramírez (2014) Exploración de germoplasma nativo de maíz en Nuevo León, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Pub. Esp. 8:1477-1485, https://doi.org/10.29312/remexca.v0i8.1106

Álvarez-Buylla E. y A. Piñeiro N. (2013) El Maíz en Peligro Ante los Transgénicos. Un Análisis Integral Sobre el Caso de México. Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades, UNAM y Unión de Científicos Comprometidos con la Sociedad, A. C. México, D. F. 567 p.

Aragón C. F., S. Taba, J. M. Hernández C., J. D. Figueroa C., V. Serrano A. y F. H. Castro G. (2006) Catálogo de Maíces Criollos de Oaxaca. Libro Técnico No. 6. Campo Experimental Valles Centrales, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santo Domingo Barrio Bajo, Etla, Oaxaca. 343 p.

Azpiroz-Leeman M. and K. A. Feldmann (1997) T-DNA insertion mutagenesis in *Arabidospis:* going back and forth. *Trends in Genetics* 13:152-156, https://doi.org/10.1016/s0168-9525(97)01094-9

Bellon M. R. and J. Berthaud (2004) Transgenic maize and the evolution of landrace diversity in Mexico. The importance of farmers' behavior. *Plant Physiology* 134:883-888, https://doi.org/10.1104/pp.103.038331

Bellon M. R. and S. B. Brush (1994) Keepers of maize in Chiapas, Mexico. *Economic Botany* 48:196-209, https://doi.org/10.1007/BF02908218

Birch R. G. and T. Franks. (1991) Development and optimization of

microprojectile systems for plant genetic transformation. *Australian Journal of Plant Physiology* 18:453-469, https://doi.org/10.1071/PP9910453

Carlson W. R. (1988) The cytogenetics of corn. *In*: Corn and Corn Improvement. Third edition. G. F. Sprague and J. W. Dudley (eds.). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA. pp:259-343.

Chrystou P. (1992) Genetic transformation of crop plants using microprojectile bombardment. *The Plant Journal* 2:275-281, https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1992.00275.x

Cruz D. M. S., M. M. Gómez V., M. E. Ortíz P., A. M. Entzana T., C. Y. Suárez H. y V. Santillán M. (2010) Situación Actual y Perspectivas del Maíz en México 1996-2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. México, D. F. 90 p.

Dafni-Yelin M. and T. Tzfira (2007) Delivery of multiple transgenes to plant cells. *Plant Physiology* 145:1118-1128, https://doi.org/10.1104/pp.107.106104

D'Amato F. (1991) Nuclear changes in cultured plant cells. *Caryologia* 4:217-224, https://doi.org/10.1080/00087114.1991.10797188

Darbani B., S. Farajna, M. Toorchi, S. Zakerbastanabad, S. Noerparvar and C. H. Steward Jr. (2008) DNA-delivery methods to produce transgenic plants. *Biotechnology* 7:385-402, https://doi.org/10.3923/biotech.2008.385.402

De Block M., J. Botterman, M. Vandewiele, J. Dockx, C. Thoen, V. Gasselé, … and J. Leemans (1987) Engineering herbicide resistance in plants by expression of detoxifing enzyme. *The EMBO Journal* 6:2513-2518, https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1987.tb02537.x

De Ita A. (2012) La defensa internacional del maíz contra la contaminación transgénica en su centro de origen. *El Cotidiano* 173:57-65.

Druker S. M. (2018) Genes Alterados, Verdad Adulterada. Cómo la Empresa de los Alimentos Modificados Genéticamente Ha Trastocado la Ciencia, Corrompido a los Gobiernos y Engañado a la Población. Icaria Editorial. Barcelona, España. 526 p.

Duncan R. R. (1997) Tissue culture-induced variation and crop improvement. *Advances in Agronomy* 58:201-240, https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60256-4

Dyer G. A., J. A. Serratos-Hernández, H. R. Perales, P. Gepts, A. Piñeiro-Nelson, A. Chavez, … and E. R. Álvarez-Buylla (2009) Dispersal of transgene through maize seed systems in Mexico. *PLos ONE* 4(5):e5734, https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005734

Gheysen G., R. Villaroel and M. van Montagu (1991) Illegitimate recombination in plants: a model for T-DNA integration. *Genes and Development* 5:287-29, https://doi.org/10.1101/gad.5.2.287

González-Ortega E., A. Piñeyro-Nelson, E. Gómez-Hernández, E. Monterrubio-Vázquez, M. Arleo, J. Dávila-Valderrrain, … and E. R. Alvarez-Buylla (2017) Pervasive presence of transgenes and glyphosate in maize-derived food in Mexico. *Agroecology and Sustainable Food Systems* 41:1146-1161, https://doi.org/10.1080/21683565.2017.1372841

Gordon-Kamm W. J., T. M. Spencer, M. L. Mangano, T. R. Adams, R. J. Daines, W. G. Start, … and P. G. Lemaux (1990) Transformation of maize cells and regeneration of fertile transgenic plants. *The Plant Cell* 2:603-618, https://doi.org/10.1105/tpc.2.7.603

Gould J., M. Devey, O. Hasegawa, E. C. Ulian, G. Peterson and R. H. Smith (1991) Transformation of *Zea mays* L. using *Agrobacterium tumefaciens* and the shoot apex. *Plant Physiology* 95:426-434, https://doi.org/10.1104/pp.95.2.426

Halpin C. (2005) Gene stacking in transgenic plants- the challenge for 21st century plant biotechnology. *Plant Biotechnology Journal* 3:141-155, https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2004.00113.x

Hang A. and P. Bregitzer (1993) Chromosomal variations in immature embryo-derived calli from six barley cultivars. *Journal of Heredity* 84:105-108, https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111288

Hansen G. and M-D. Chilton (1996) "Agrolistic" transformation of plant cells: integration of T-strands generated *in planta*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:14978-14983, https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14978

Hellens R., P. Mullineax and H. Klee (2000) A guide to *Agrobacterium* binary Ti vectors. *Trends in Plant Science* 5:446-451, https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01740-4

Hernández X. E. y G. Alanís F. (1970) Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones filogenéticas y fitogeográficas. *Agrociencia* 5:3-30.

Hernández M., M. Pla, T. Esteve, S. Prat, P. Puidomènech and A. Ferrando (2003) A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON810 in maize YieldGard based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research* 12:179-189, https://doi.org/10.1023/a:1022979624333

Herrera C. B. E., F. Castillo G., J. J. Sánchez G., J. M. Hernández C., R. A. Ortega P. y M. M. Goodman (2004) Diversidad del maíz Chalqueño. *Agrociencia* 38:191-206.

Ishida Y., H. Saito, S. Ohta, Y. Hiei, T. Komari and T. Kumashiro (1996) High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Nature Biotechnology 14:745-750, https://doi.org/10.1038/nbt0696-745

Jain S. M. (2001) Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica* 118:153-166, https://doi.org/10.1023/A:1004124519479

Kaeppler S. M., R. L. Phillips and P. Olhoft (1998) Molecular basis of heritable tissue culture-induced variation in plants. *In*: Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture. Vol. 32. S. M. Jain, D. S. Brar and B. S. Ahloowalia (eds.). Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp:465-484, https://doi.org/10.1007/978-94-015-9125-6_23

Kaeppler S. M., H. F. Kaeppler and Y. Rhee (2000) Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant Molecular Biology* 43:179-188, https://doi.org/10.1023/A:1006423110134

Kaessmann H. (2010) Origin, evolution, and phenotypic impact of new genes. *Genome Research* 20:1313-1326, https://doi.org/10.1101/gr.101386.109

Kato Y. T. A. (1984) Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary Biology* 17:219-253.

Kato Y. T. A., C. Mapes S., L. M. Mera O., J. A. Serratos H. y R. A. Bye B. (2009) Origen y Diversificación del Maíz: una Revisión Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F. 116 p.

Kato-Yamakake T. A. (2004) Variedades transgénicas y el maíz nativo en México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 1:101-109.

Kemper E. L., M. J. da Silva and P. Arruda (1996) Effect of microprojectile bombardment parameters and osmotic treatment on particle penetration and tissue damage in transiently transformed culture immature maize (*Zea mays* L.) embryos. *Plant Science* 121:85-93, https://doi.org/10.1016/S0168-9452(96)04500-1

Klein T. M., L. Kornstein, J. C. Sanford and M. E. Fromm (1989) Genetic transformation of maize cells by particle bombardment. *Plant Physiology* 91:440-444, https://doi.org/10.1104/pp.91.1.440

Kohli A., B. Miro and R. M. Twyman (2010) Transgene integration, expression and stability in plants: strategies for improvements. *In* Transgenic Crop Plants. C. Kole, C. H. Michler, A. G. Abbott and T. C. Hall (eds.). Springer-Verlag. Berlin-Heildelberg, Germany. pp:201-237, https://doi.org/10.1007/978-3-642-04809-8_7

Koncs C., K. Nemeth, G. P. Rédei and J. Schell (1992) T-DNA insertional mutagenesis in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology* 20:963-976, https://doi.org/10.1007/BF00027166

Kumpatla S. P., M. B. Chandrasekharan, L. M. Iyer, G. Li and T. C. Hall (1998) Genome intruder scanning and modulation systems and the gene silencing. *Trends in Plant Science* 3:97-104, https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01194-1

Latham J. R., A. K. Willson and R. A. Steinbrecher (2006) The mutational consequences of plant transformation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2006:25376, https://doi.org/10.1155/JBB/2006/25376

Lee M. and R. Phillips (1988) The chromosomal basis of somaclonal variation. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* 39:413-437, https://doi.org/10.1146/annurev.pp.39.060188.002213

Louette D. (1996) Intercambio de semillas entre agricultores y flujo genético entre variedades de maíz en sistemas agrícolas tradicionales. *In*: Flujo Genético entre Maíz Criollo, Maíz Mejorado y Teocintle: Implicaciones para el Maíz Transgénico.

CIMMYT. México, D. F. pp:60-71.

Louette D. and M. Smale (2000) Farmers' seed selection practices and traditional maize varieties un Cuzalapa, Mexico. *Euphytica* 113:25-41, https://doi.org/10.1023/A:1003941615886

Louette D., A. Charrier and J. Berthaud (1997) *In situ* observation of maize in Mexico: genetic diversity and maize seed management in a traditional community. *Economic Botany* 51:20-38, https://doi.org/10.1007/BF02910401

Mangwhar H., K. Lindsey, X. Zhang and S. Jin (2019) CRISPR/Cas system: recent advances and future prospects for genome editing. *Trends in Plant Science* 24:1102-1125, https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.006

Matzke M. A. and A. J. M. Matzke (1995) How and why do plants inactivate homologous (trans)genes? *Plant Physiology* 107:679-685, https://doi.org/10.1104/pp.107.3.679

Matzke M. A., M. F. Mette and A. J. M. Matzke (2000) transgene silencing by the host genome defense: implications for the evolution of epigenetic control mechanisms in plants and vertebrates. *Plant Molecular Biology* 43:401-415, https://doi.org/10.1023/A:1006484806925

Mayerhofer R., Z. Koncs-Kalman, C. Nawrath, G. Blakkeren, A. Cromeri, K. Angelis, … and C. Koncs (1991) T-DNA integration: a mode of illegitimate recombination in plants. *EMBO Journal* 10:697-704, https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1991.tb07999.x

McClintock B. (1951) Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 16:13-47, https://doi.org/10.1101/SQB.1951.016.01.004

McClintock B. (1978) Significance of chromosome constitutions in tracing the origin and migration of maize in the Americas. *In*: Maize Breeding and Genetics. D. B. Walden (ed.). John Wiley and Sons. New York, USA. pp:159-184.

McClintock B. (1980) Modified gene expressions induced by transposable elements. Mobilization and Reassembly of Genetic Information. Miami Symposia Vol. 17. W. A. Scott, R. Werner, D. N. Joseph and J. Schults (eds.). Academic Press. New York, USA. pp:11-19, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-633360-2.50007-3

McClintock B. (1984) The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 226:792-801, https://doi.org/10.1126/science.15739260

McClintock B., T. A. Kato Y. y A. Blumenschein (1981) Constitución Cromosómica de las Razas de Maíz. Su Significado en la Interpretación de Relaciones entre Razas y Variedades en las Américas. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Estado de México. 521 p.

McEachern L. A. (2012) Transgenic epigenetics: using transgenic organisms to examine epigenetic phenomena. *Genetic Research International* 2012:689819, https://doi.org/10.1155/2012/689819

Mehlo L., G. Matzithulekla, R. M. Twyman, M. I. Boulton, J. W. Davies and P. Christou (2000) Structural analysis of transgene rearrangement and effects on expression in transgenic maize plants generated by particle bombardment. *Maydica* 45:277-287.

Mercer K. L. and J. D. Wainwright (2008) Gene flow from transgenic maize to landraces in Mexico: an analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123:109-115, https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.05.007

Meyer P. and H. Saedler (1996) Homology-dependent gene silencing in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47:23-48, https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.23

Ohba T., Y. Yoshioka, C. Machida and Y. Machida (1995) DNA rearrangement associated with the integration of T-DNA in tobacco: an example for multiple duplications of DNA around the integrated target. *The Plant Journal* 7:157-164, https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1995.07010157.x

Ohno S. (1970) Evolution by Gene Duplication. Springer-Verlag. New York, USA. 160 p, https://doi.org/10.1007/978-3-642-86659-3

Ortega P. R. (2003) La diversidad del maíz en México. *In*: Sin Maíz no Hay País. G. Esteva y C. Marielle (coords.). Culturas Populares de México. México, D. F. pp:123-154.

Ortega P. R. y J. J. Sánchez G. (1989) Aportaciones al estudio de la diversidad de maíz en las artes altas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 12:105-119.

Ortega P. R., J. J. Sánchez G., F. Castillo G. y J. M. Hernández C. (1991) Estado actual de los estudios sobre maíces nativos de México. *In*: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. R. Ortega P., G. Palomino H., F. Castillo G., V. A. González H. y M. Livera M. (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, Estado de México. pp:161-185.

Pellicer A., D. Robins, B. Wold, R. Sweet, J. Jackson, I. Lowy, … and R. Axel (1980) Altering genotype and phenotype by DNA-mediated gene transfer. *Science* 209:1414-1422, https://doi.org/10.1126/science.7414320.

Peng T., X. Sun and R. H. Mumm (2014) Optimized breeding strategies for multiple trait integration: I. Minimizing linkage drag in single event introgression. *Molecular Breeding* 33:89-104, https://doi.org/10.1007/s11032-013-9936-7

Phillips R. L., R. A. Kleese and S. S. Wang (1971) The nucleolar organizer region of maize (*Zea mays* L.): chromosomal site of DNA complementary to ribosomal RNA. *Chromosoma* 36:79-88, https://doi.org/10.1007/BF00326423

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

Piñeyro-Nelson A., J. van Heerwaarden, H. R. Perales, J. A. Serratos-Hernández, A. Rangel, M. B. Hufford, ….. and E. R. Alvarez-Buylla (2009b) Resolution of the Mexican transgene detection controversy: error sources and scientific practice in commercial and ecological contexts. *Molecular Ecology* 18:4145-4150, https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04369.x

Preciado O. R. E. y S. Montes H. (2011) Amplitud, Aprovechamiento y Riesgos de la Diversidad Genética de Maíz en México. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, Estado de México. 274 p.

Que Q., M-D. M. Chilton, C. M. de Fontes, C. He, M. Nuccio, T. Shu, … and L. Shi (2010) Trait stacking in transgenic crops: challenges and opportunities. *Genetically Modified Crops* 1:220-229, https://doi.org/10.4161/gmcr.1.4.13439

Que Q., S. Elumalai, X. Li, H. Zhong, S. Walapalli, M. Schweiner, … and M-D. M. Chilton (2014) Maize transformation technology development for commercial event generation. *Frontiers in Plant Science* 5:379, https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00379

Quist D. and I. H. Chapela (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414:541-543, https://doi.org/10.1038/35107068

Reams A. B. and J. R. Roth (2015) Mechanism of gene duplication and amplification. Cold Spring Harbor Perspective Biology 7: a016592, https://doi.org/10.1101/cshperspect.a.016592

Register III J. C., D. J. Peterson, P. J. Bell, W. P. Bullock, I. J. Evans, B. Frame, … and H. M. Wilson (1994) Structure and function of selectable and non-selectable transgenes in maize after introduction by particle bombardment. *Plant Molecular Biology* 25:951-961, https://doi.org/10.1007/BF00014669

Rhodes C. A., D. A. Pearce, I. J. Mettler, D. Mascarenhas and J. J. Detmer (1988) Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science* 240:204-207, https://doi.org/10.1126/science.2832947

Rocandio-Rodríguez M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz, … y R. Ortega-Paczka (2014) Caracterización morfológica y agronómica de siete razas de los valles altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37:351-361, https://doi.org/10.35196/rfm.2014.4.351

Sala F., A. Arencibia, S. Castiglione, H. Yifan, M. Labra, C. Savini, … and N. Pelucci (2000) Somaclonal variation in transgenic plants. *Acta Horticulturae* 530:411-419, https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.530.48

Sánchez G. J. J., M. M. Goodman and C. W. Stuber (2000) Isozymatic and morfological diversity in the races of maize in Mexico. *Economic Botany* 54:43-59, https://doi.org/10.1007/BF02866599

Schouten H. J. and E. Jacobsen (2007) Are mutations in genetically modified plants dangerous? *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2007:82612, https://doi.org/10.1155/2007/82612

Séralini G. E., E. Clair, R. Mesnage, S. Gress, N. Defarge, M. Malatesta, … and J. Spiroux de Vendômois (2014) Republished study: long-term toxycity of a Roudup herbicide and a Roundup-tolerant

genetically modified maize. *Environmental Sciences Europe* 26:14, https://doi.org/10.1186/s12302-014-0014-5

Serratos-Hernández J. A., F. Islas-Gutiérrez, E. Buendía-Rodríguez and J. Berthaud (2004) Gene flow scenarios with transgenic maize in Mexico. *Environmental Biosafety Research* 3:149-157, https://doi.org/10.1051/ebr:2004013

Serratos-Hernández J. A., J. L. Gómez-Olivares, N. Salinas-Arreortua, E. Buendía-Rodríguez, F. Islas-Gutiérrez and A. De-Ita (2007) Transgenic proteins in maize in the soil conservation area of Federal District, Mexico. *Frontiers of Ecology and Environment* 5:247-252, https://doi.org/10.1890/1540-9295(2007)5[247:TPIMIT]2.0.CO;2

Shou H., B. M. Frame, S. A. Whitman and K. Wang (2004) Assessment of transgenic maize events produced by particle bombardment or Agrobacterium-mediated transformation. *Molecular Breeding* 13:201-208, https://doi.org/10.1023/B:MOLB.0000018767.64586.53

Smith N., J. B. Kilpatric and G. C. Whitelman (2001) Superfluous transgene integration in plants. *Critical Reviews in Plant Science* 20:215-249, https://doi.org/10.1080/20013591099218

Songstad D. D., C. L. Armstrong, W. L. Petersen, B. Hairston and M. A. W. Hinchee (1996) Production of transgenic maize plants and progeny by bombardment of hi-II immature embryos. *In Vitro Cell Developmental Biology–Plant* 32:179-183, https://doi.org/10.1007/BF02822763

Srivastava V. and J. Thompson (2016) Gene stacking by recombinases. *Plant Biotechnology Journal* 14:471-482, https://doi.org/10.1111/pbi.12459

Stelpflug S. C., S. R. Eichten, P. J. Hermanson, N. M. Springer and S. M. Kaeppler (2014) Consistent and heritable alteration of DNA methylation are induced by tissue culture in maize. *Genetics* 198:209-218, https://doi.org/10.1534/genetics.114.165480

Taverniers I., N. Papazova, Y. Bertheu, M. De Loose and A. Holst-Jensen (2008) Gene stacking in transgenic plants: towards compliance between definitions, terminology, and detection within the EU regulatory framework. *Environmental Biosafety Research* 7:197-218, https://doi.org/10.1051/ebr:2008018

Tinland B. (1996) The integration of T-DNA into plant genomes. *Trends in Plant Science* 1:178-184, https://doi.org/10.1016/1360-1385(96)10020-0

Turrent F. A., J. A. Serratos H., H. Mejía A. y A Espinosa C. (2009) Liberación comercial de maíz transgénico y acumulación de transgenes en razas de maíz mexicano. *Revista Fitotecnia Mexicana* 3:257-263, https://doi.org/10.35196/rfm.2009.4.257

Vallianatos E. G. and M. Jenkins (2014) Poison Spring. The Secret History of Pollution and the EPA. Bloomsbury Press. New York, USA. 304 p.

Vaucheret H., C. Béclin, T. Elmayan, F. Fuerback, C. Gordon, J.-B. Morel, … and S. Vernhettes (1998) Transgene-induced gene silencing in plants. *The Plant Journal* 16:651-659, https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00337.x

Vaucheret H. and M. Fagard (2001) Transcriptional gene silencing in plants: targets, inducers and regulators. *Trends in Genetics* 17:29-35, https://doi.org/10.1016/S0168-9525(00)02166-1

Wellhausen E. J., L. M. Roberts y E. Hernández-X. en colaboración con P. C. Mangelsdorf (1951) Razas de maíz en México. Su origen, características y distribución. Folleto Técnico No. 5. Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D. F. 237 p.

Wilkes H. G. (1967) Teosinte: the closest relative of maize. *In*: Corn: Its Origin, Evolution and Improvement. P. C. Mangelsdorf (ed.). The Bussey Institution, Harvard University. Cambridge, Massachusetts, USA. pp:15-36, https://doi.org/10.4159/harvard.9780674421707.c4

Wilson A., J. R. Latham and R. A. Steinbrecher (2004) Genome scrambling-induced mutations in transgenic crop plants. EcoNexus Technical Report. Brighton, UK. 35 p.

Wilson A. K., J. R. Latham and R. A. Steinbrecher (2006) Transformation-induced mutations in transgenic plants: analysis and biosafety implications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 23:209-238, https://doi.org/10.1080/02648725.2006.10648085

Yadava P., A. Abhishek, R. Singh, I. Singh, T. Koul, A. Pattanayak and P. Agrawal (2017) Advances in maize transformation technologies and development of transgenic maize. *Frontiers in Plant Science* 7:1949, https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01949

Yau Y., Y. M. Easterling and N. Stewart (2013) Precise transgene stacking in planta through the combined use of TALENs and unidirectional site-specific recombination systems. *OA Biotechnology* 2:24-29, https://doi.org/10.13172/2052-0069-2-3-876

Yu W., F. Han, Z. Gao, J. M. Vega and J. A. Birchler (2007) Construction and behavior of engineered minichromosomes in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:8924-8929, https://doi.org/10.1073/pnas.0700932104

Zambryski P. (1988) Basic processes underlying Agrobacterium-mediated DNA transfer to plant cells. *Annual Review of Genetics* 22:1-30, https://doi.org/10.1146/annurev.ge.22.120188.000245

Zambryski P. C. (1992) Cronicles from the Agrobacterium-plant cell DNA transfer story. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43:465-490, https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.002341