

DETECCIÓN DE SECUENCIAS GENÉTICAMENTE MODIFICADAS EN MIELES DE MÉXICO

José L. Juárez V. *, María G. Barrera A., Fabiola López R., Mayrén C. Zamora N.
Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados
Carretera federal México-Pachuca, km 37.5, Municipio de Tecámac, C.P. 55740 Estado de México
Teléfono (55) 59051000 ext. 53037. dgiaap.iica24@senasica.gob.mx

La PCR tiempo real, ofrece la ventaja de monitorear la amplificación mediante la cuantificación de fluorescencia captada por el termociclado, para lo cual es indispensable contar con la molécula molde lo más pura posible derivada del sistema del sistema de extracción utilizado. La pureza del ADN se determinó mediante diluciones 1:2 a las extracciones realizadas mediante el método modificado de CTAB, obteniendo un ΔCT menor al criterio establecido, se evaluaron los criterios de validación como repetibilidad, reproducibilidad, robustez etc. para determinar el límite de detección en 0,05% y el límite de cuantificación en 0,1% para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en miel.

1. INTRODUCCIÓN

El México es uno de los tres principales países productores y exportadores de miel al mundo (1). Existe la posibilidad de que las abejas recolecten polen genéticamente modificado (GM) y lo lleven al panal donde se elabora la miel (2), incorporando este ingrediente al producto. Esto podría provocar el cierre de los canales comerciales para la exportación de miel. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue validar una metodología para la extracción de ADN genómico, la detección y la cuantificación del evento MON-Ø4Ø32-6 en miel mediante qPCR.

2. METODOLOGÍA

Se generaron mezclas para obtener diferentes concentraciones del evento MON-Ø4Ø32-6. La extracción de ADN se realizó mediante el método CTAB modificado (3) y finalmente se estandarizó la técnica qPCR para determinar el límite de detección y cuantificación del evento MON-Ø4Ø32-6.

3. RESULTADOS

La estandarización del proceso de extracción de ADN a partir de polen de miel se realizó correctamente de acuerdo al procedimiento propuesto, posteriormente se estandarizó la detección, identificación y cuantificación del evento específico MON-Ø4Ø32-6 (3) en modo uniplex.

Mezclas (%)	1.0	0.5	0.01	0.05
Detección (%)	100	100	100	100

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

El límite de cuantificación se estableció interpolando cada una de las mezclas generadas para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 dentro de una curva estándar (4).

Mezclas (%)	1	0.5	0.1	0.05
Cuantificación	SI	SI	SI	*
Promedio	1.156	0.591	0.11	0.048
Desviación estándar	0.097	0.058	0.025	0.081
U (RSDID)	0.024	0.014	0.006	0.02
UC	18.1	18.1	18.1	18.1

Tabla 2. Límite de detección del evento específico MON-Ø4Ø32-6.

*Para la mezcla al 0,05% es una extrapolación y no una interpolación en la curva estándar.

4. CONCLUSIONES

La validación de la extracción de ADN genómico de la miel se realizó satisfactoriamente. El límite de detección para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en la matriz de miel fue 0,05% y 0.1% como límite de cuantificación.

5. REFERENCIAS

- [1] Programa Nacional Pecuario 2007-2012.
- [2] Vides Borrell E.et. Al. (2012) Pecoreo de abejas Apis mellifera en flores de soya Glycine max.
- [3] Van den Bulcke M. et. Al. (2012) Verification Report on the Extraction and Analysis of GM Pollen DNA in Honey. DOI: 10.2788/50503.
- [4] Matetovici I. et. Al. (2012) Standard Operating Procedure DNA Extraction from honey and pollen- CTAB. JRC.I3S64B6/EURL.