PERÚ Ministerio del Ambiente | Viceministerio de Desarrollo Estratégico de los Recursos Naturales

CARGO

"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año del Centenario de Machu Picchu para el mundo"

Lima, 3 1 ENE 2011

0 2 FEB. 2011

Oficio Nº 012 -2011-DVMDERN/MINAM

Ingeniero
César Paredes Piana
Jefe
Instituto Nacional de Innovación Agraria
Av. La Molina Nº 1981
La Molina

Asunto: Informe Técnico que sustenta los resultados del Proyecto "Verificación de la presencia de cultivos de maíz transgénico en el valle de Barranca

Referencias: (1) Oficio Nº0047-2010-INIA-SUDIRGEB-DIA/J
(2) Oficio N-5701-2010-PCM/SG-SC

De mi consideración:

Tengo el agrado de saludarlo cordialmente y en atención a los documentos de la referencia, alcanzo a su Despacho, el Informe Técnico N° 02-2011-DGDB-spastor/MINAM, en el que se resume y resalta las conclusiones y recomendaciones del Informe N°002-2010-DGDB/ESYG, relativo a la presentación "Verificación de la presencia de cultivos de maíz transgénico en el Valle de Barranca" realizada el 18 de junio de 2010, en el Foro "La Biotecnología Moderna en el Sector Agrario: oportunidades y desafíos"; asimismo, se ha analizado su coherencia con los resultados presentados en el informe *in extenso*, enviado a nuestro sector desde su Despacho (1) y desde la Secretaría General de la Presidencia del Consejo de Ministros (2).

Al respecto, solicitarle tenga a bien realizar una presentación de todos los resultados obtenidos y las aclaraciones que considere pertinentes al análisis realizado por los especialistas de la Dirección General de Diversidad Biológica del MINAM.

Asimismo, pongo de su conocimiento que por acuerdo del Grupo Técnico de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica (CONADIB), se convocará a un grupo de expertos, para valorar las posibles inconsistencias identificadas y de ser necesario, generar las recomendaciones que nos permitan mejorar nuestros sistemas de identificación y evaluación de OVM y seguir avanzando en el objetivo nacional de lograr un sistema de bioseguridad responsable, seguro y transparente, en resguardo de nuestra diversidad biológica y teniendo en cuenta también los posibles efectos adversos sobre la salud humana.

Al mismo tiempo, agradeceré también presentar los resultados que se hayan obtenido del análisis de esas mismas muestras en laboratorios extranjeros, según compromiso expresado por su representante en el evento del 18 junio de 2010. Estos resultados, a manera de "contra-muestra", son de vital importancia para fines de validación, siendo una práctica muy recomendable en todos los casos tan graves como el que nos ocupa.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

ROSARIO GOMEZ GAMARRA
Viceministra de Desarrollo Estratégico de los Recursos Naturales
MINISTERIO DEL AMBIENTE

RGG/mcq/sps/ers

PERÚ Ministerio del Ambiente
Trámite Documentario
RECIBIDO 12:38 PM 02/02/2011 REG. Nº 0305
Despacho - Documentos

www.minam.gob.pe
webmaster@minam.gob.pe
Av. Javier Prado Oeste 1440
San Isidro, Lima 27, Perú
T: (511) 611 6000
Anexo: 1633

PERÚ | Ministerio del Ambiente | Viceministerio de Desarrollo Estratégico de Recursos Naturales

CARGO

"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año del Centenario de Machu Picchu para el Mundo"

INFORME Nº 019 -2011-DGDB/VMDERN/MINAM

PARA	:	**ECO. ROSARIO GOMEZ GAMARRA** Viceministra de Desarrollo Estratégico de Recursos Naturales
DE	:	**MIRIAM CERDÁN QUILIANO** Directora General de Diversidad Biológica
ASUNTO	:	Presencia de OVM no autorizados en el Valle de Barranca
REF	:	Informe Técnico Nº 02-2011-DGDB-spastor/MINAM (Reg. (17873) (13894) (13933)
FECHA	:	San Isidro, 25 de enero de 2011

Es grato dirigirme a usted a fin de saludarla y en atención al documento de la referencia, hacerle llegar el Informe Técnico Nº 02-2011-DGDB-spastor/MINAM, del Consultor Blgo. Santiago Pastor Soplín, respecto a la inconsistencia en informe sobre presencia de OVM no autorizados en el Valle de Barranca.

Cabe mencionar, que se ha solicitado al consultor que prepare las comunicaciones para dar cumplimiento a las recomendaciones punto 2 y 3.

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente,

MINISTERIO DEL AMBIENTE Dirección General de Diversidad Biológica VMDERN MINAM

Miriam Cerdán Quiliano
Directora General de Diversidad Biológica

MCQ/cdc

MINISTERIO DEL AMBIENTE
DESPACHO VICEMINISTERIAL
DESARROLLO ESTRATEGICO DE LOS RECURSOS NATURALES
RECIBIDO
25 ENE. 2011
V° B° Hora: 6:00p
Firma

Informe Técnico N°02-2011-DGDB-spastor/MINAM

MINISTERIO DEL AMBIENTE
Dirección General de Diversidad Biológica
- DGDB -
12 ENE. 2011
RECIBIDO
Firma: ..... Hora: 16:55

Para: **Miriam Cerdán Quiliano**
Directora General de Diversidad Biológica

De: **Santiago Pastor Soplín**
CBP N°7658

Asunto: **Inconsistencia en informe sobre presencia de OVM no autorizados en el valle de Barranca.**

Referencia: **INFORME Nº 002 -2010-DGDB/ESYG**

Fecha: **San Isidro, 12 de enero de 2011.**

ANTECEDENTES

A partir del mes de febrero de 2006 la Dra. Antonieta Gutiérrez y colaboradores iniciaron un estudio para determinar la presencia de material transgénico en campos de cultivo de maíz en la localidad de Barranca. En noviembre del 2007 presenta un informe sobre el resultado de sus investigaciones al Organismos Sectorial Competente, el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). En Mayo de 2008 se presenta el reporte de la Dra. Gutiérrez y colaboradores durante el 13º Congreso Latinoamericano de Genética y VI Congreso Peruano de Genética, realizado en Lima[1].

El 18 de junio de 2010 el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) en su Componente de Regulación de la Seguridad de la Biotecnología Agraria realiza la presentación titulada "VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA" en el Foro Internacional "La Biotecnología Moderna en el Sector Agrario: Oportunidades y Desafíos", que en adelante se citará como "presentación junio 2010". No se distribuyó versión impresa de dicha presentación en diapositivas, la misma que es colgada la semana siguiente en la web institucional del INIA y posteriormente en el Centro de Intercambio de Información del Perú[2] (BCH).

El 05 de octubre del 2010, el jefe del INIA envía a la Presidencia del Consejo de Ministros (PCM) el Informe Técnico "VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA", correspondiente a los resultados presentados el 18 de junio de 2010. Mediante oficio 5701-2010-PCM/SG-SC, el Secretario General de la PCM envía al Ministerio del Ambiente, copia de dicho informe, el mismo que es recibido en la Dirección General de Diversidad Biológica el 26 de noviembre del 2010 y es analizado por la Blga, Eliana Yglesias con la colaboración de la Blga. Magister Emma Rivas Seoane y el Bach. José Vásquez. El informe fue revisado por el Blgo. Santiago Pastor y entregado a la Dirección General de Diversidad Biológica.

ANÁLISIS

Dado que el análisis en detalle ya ha sido desarrollado por la Blga. Yglesias, sólo se presenta un breve resumen de las principales inconsistencias observadas, sus posibles implicaciones y se pone a consideración algunas recomendaciones.

---

[1] http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2009/reporte1.pdf.
[2] http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2010/presentaciones/pctvb.pdf

Premisa

El análisis se realizó bajo la premisa básica que la información presentada por INIA en junio de 2010 y en el informe técnico de noviembre de 2010 deben ser perfectamente compatibles ya que se trata de las mismas muestras, los mismos datos y teóricamente los mismos resultados.

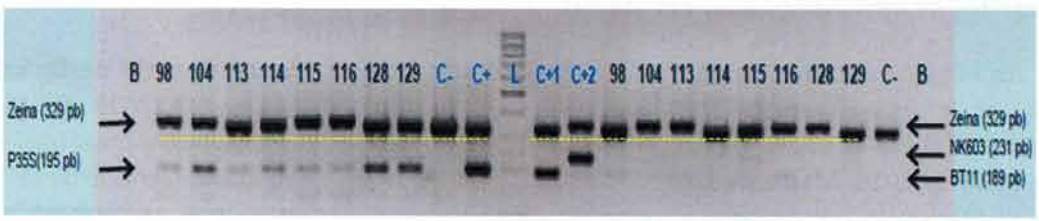
El análisis minucioso realizado por la Blga. Yglesias, demuestra de manera fehaciente que no sólo existiría incompatibilidad entre las muestras y los resultados de ambos documentos, sino también habría incompatibilidad entre las muestras presentadas en junio de 2010.

I.- Inconsistencias observadas

i) Sobre la correcta identificación de las muestras

Respecto a las muestras de junio 2010, en la figura 6 del informe de la Blga. Yglesias se percibe con toda claridad que el mismo grupo de muestras corridas a ambos lados de un mismo ensayo (bandas del gel de electroforesis) tienen diferente comportamiento (migración electroforética). Esto es evidente si se compara por pares las muestras de ambos lados del mismo gel de la figura 6. Si observamos detenidamente, las muestras 98 y 104 del lado izquierdo, se puede verificar que están a un mismo nivel de migración electroforética. Si observamos el mismo par de muestras corridas en el lado derecho del mismo ensayo (gel de la figura 6), se podrá verificar que la muestra 98 está claramente más baja que la 104. Esto indicaría técnicamente que se trata de muestras diferentes. Es posible verificar la misma incompatibilidad si se analiza todos los pares de muestras de ese ensayo (104 y 113; 113 y 114; 114 y 115; 115 y 116; 116 y 128; y 128 y 129). Una misma muestra en un mismo ensayo deberá comportarse de la misma manera, y no como se observa en el ensayo presentado. Para graficar más aun la magnitud de la distorsión que se observa, debe tomarse en cuenta que el ensayo se realiza sobre un soporte (gel de electroforesis) de agarosa al 2% y la banda analizada corresponde al gen indicador de la zeína que mide 329 pares de bases. Las diferencias observadas podrían corresponder a diferencias de tamaño de 20 pares de bases o más. Es decir, lo que se estaría presentando como zeína para cada muestra, correspondería a entidades genéticas distintas, observándose al menos tres tamaños diferentes.

Figura 6 Ubicación de bandas para el gen de la zeína a partir de la presentación de junio 2010

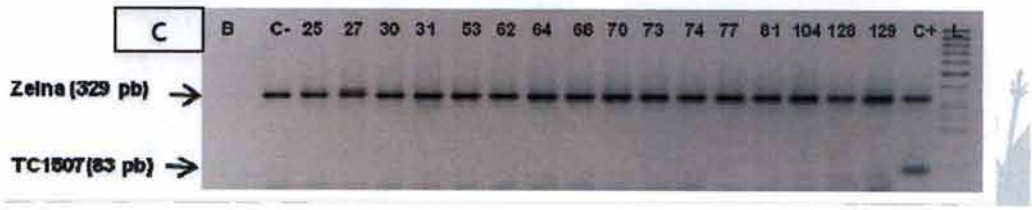


Un distorsión mayor aun se observa cuando se compara las muestras 128 y 129 en el ensayo de la figura 6 (junio 2010) y las mismas muestras en la figura 7 (informe técnico octubre 2010). Se observa que el comportamiento de las muestras es muy distinto.

Observar el comportamiento diferente de las mismas muestras 128 y 129, en las tres posiciones en que aparecen en estos dos ensayos.

Ubicación de bandas para el gen de la zeína en la presentación de Junio 2010, muestras de campos de cultivo

Ubicación de bandas para el gen de la zeína en el Informe Técnico, muestras de campos de cultivo

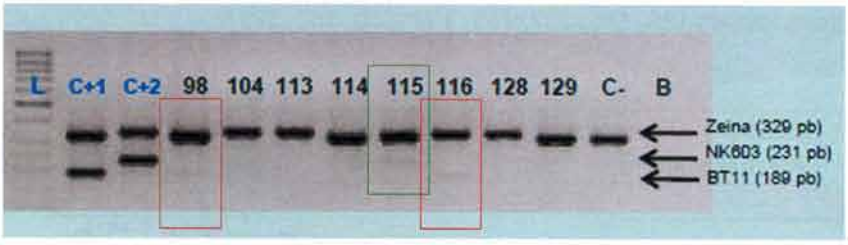


ii) Sobre la verificación de los falsos positivos

En la figura 5 del informe de la Blga. Yglesias se recoge el ensayo presentado por INIA en junio de 2010 en el que se observan 03 muestras con bandas tenues pero definidas positivas para los eventos transgénicos para las muestras de maíz de campo numeradas como 98, 115 y 116.

Resultados presentados para detección de eventos específicos: NK603 y BT11

a. Presentación Junio 2010: campos de cultivo – eventos NK603 y BT11



Estas muestras (98, 115 y 116) ya no son incluidas en el "Informe de octubre 2010", lo cual contraviene el más mínimo principio de rigurosidad científica y tratándose de un estudio oficial del organismo competente, afectaría seriamente el principio de transparencia. En aplicación del Principio Precautorio y de rigurosidad científica, tendría que haberse mostrado nuevamente y con un análisis más completo y expeditivo, hasta agotar la posibilidad de verificar si se trata de un "falso positivo" o un "verdadero positivo". Las consecuencias de esta verificación son demasiado importantes como para que sea especialmente importante hacerla y explicarla con detalle.

iii) Sobre el número de muestras.

Adicionalmente, se encuentra una inconsistencia entre el número de muestras en la "presentación de junio de 2010" y el "informe técnico octubre 2010". No sólo habría dos muestras menos, sino que las cuatro (04) de mayor interés (granos de maíz de campos de cultivo) ya no habrían sido tomadas en cuenta (Cuadro 3 del informe de la Blga. Yglesias). Esta también es una inconsistencia muy seria que debe ser convenientemente aclarada.

Número de muestras reportadas en Presentación Junio 2010 y en Informe Técnico Octubre 2010

Procedencia	Tipo	Cantidad de Muestras	
		Presentación Junio 2010	Informe Técnico
Campo de cultivo	Hoja	134	134
Campo de cultivo	Grano	4	0
Centro de acopio (Avícola)	Grano	8	9
Semillera	Semilla	2	4
Mercados locales	Grano	16	15
Totales		**164**	**162**

iv) Sobre la presencia del promotor P35 como indicador de la existencia de material OVM.

Finalmente, en la figura 8 del informe de la Blga. Yglesias, se presentan resultados positivos para muestras que provendrían de campos de cultivo, el promotor P35 asociado a la presencia de material transgénico, ya que es el más usado en las construcciones genéticas que se hacen para este fin. En el cuadro 4 del informe de la Blga. Yglesias, se resume comparativamente los resultados de los ensayos para detectar el P35, verificándose que algunas muestras dan positivo de manera consistente (con dos técnicas –iniciadores diferentes (muestras de campos de cultivo: 68, 70, 73, 74, 77, 81, 104, 128, 129); y muestras probablemente de centros de acopio o mercados locales 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162).

Cuadro 4. Diferencias en la presencia del promotor 35S en la Presentación junio 2010 (P) e Informe Técnico octubre 2010

Nº Muestra	P	I	P	I
	195bp	195bp	101bp	101bp
	P35S	P35S	P35S	P35S
25				1
26				
27				1
30				1
31				1
52				
53				1
62				1
63				
64				1
65				
66	1			
67				
68	1			1
70	1			1

73	1			1
74	1			1
77	1			1
79	1			
81	1			1
98	1			
104	1			1
113	1			
114	1			
115	1			
116	1			
128	1			1
129	1			1
136				
137				
138				
139				1
140				
141				1
142				1
143				
144				1
145				
148				
149				
150				
151				
152				
153				
155	1		1	1
156	1		1	1
157	1		1	1
158	1		1	1
159	1		1	1
160	1		1	1
161	1		1	1
162	1		1	1

De hecho, la eficacia de este gen P35, como indicador de la presencia de material transgénico es tal que entre las acciones a realizar señaladas por el mismo INIA (Diapositiva 37 de la presentación de junio2010), se proponen "identificar los eventos (léase: transgénicos) específicos en las muestras que amplifican para las regiones del promotor P35 en las muestras de maíz provenientes de campos de cultivo del valle de Barranca".

En el Informe de octubre 2010, sostienen de que se habría tratado de contaminación sin aportar un análisis de descarte de falsos positivos, sino solamente en base a referencias bibliográfica (Wolf et al. 2000 y Holden et al 2009) o a contaminación, lo cual refleja un trabajo inadecuado. La gravedad de este hallazgo es tal que debe hacerse un análisis práctico de descarte de falsos positivos.

v) Demostración gráfica de todos los resultados.

Una observación general es que dada la gravedad del problema que se está evaluando, debe mostrarse fotos de todas las muestras y en orden correlativo con una identificación rigurosa de las mismas para evitar cualquier duda o incertidumbre sobre su identidad.

II.- Posibles implicaciones

Desde noviembre de 2007 en que la Dra. Antonietta Gutierrez hace pública su denuncia sobre la presencia de transgénicos no autorizados en el valle de Barranca, han sucedido al menos 3 denuncias adicionales, dos de la misma Dra. Gutierrez en otros valles de la costa norte y una de la RAA sobre la presencia de soya y maíz transgénico en mercados locales de Ayacucho y Huánuco.

De todas estas denuncias, el Organismos Sectorial Competente sólo ha atendido parcialmente la primera, lo cual es más que preocupante porque estaría incumpliendo su función según la Ley 27104 y específicamente los artículos 50° y 51° del DS N°0108-2002, que obliga a la autoridad competente a tener planes de emergencia ante situaciones como las denunciadas. El uso ilegal y no controlado de OVM podría estar impactando en la diversidad biológica, más aun si la consideramos que las especies en cuestión son estrictamente de polinización cruzada, considerando que en el caso de la soya los insectos desempeñan una función muy especial.

De mantenerse esta incertidumbre sobre la veracidad de las denuncias hasta ahora realizadas, podría provocar un impacto ambiental y socioeconómico de consecuencias difíciles de calcular para una realidad como la peruana, donde aún no es posible visualizar con claridad si la biotecnología moderna tiene alguna aplicación que sea realmente oportuna y pertinente, como lo determina el lineamiento b) de la Política Nacional del Ambiente en materia de Bioseguridad (p16 PNA, 2009).

Como Punto Focal del Protocolo de Cartagena el Ministerio del Ambiente es el responsable de su implementación y como Instancia de Coordinación Intersectorial para la Ley 27104, corresponde convocar a los sectores y promover la implementación de la norma. En este sentido, como parte de las acciones del Grupo Técnico de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica el tema fue puesto en agenda de la última reunión y se acordó pedir la explicación sobre las inconsistencias que se encuentran en lo informado sobre el caso de Barranca. Para ello, se acordó realizar una reunión convocando a los autores de los informes y a otros expertos competentes de la lista de expertos en bioseguridad, para discutir estas observaciones y alcanzar la claridad y transparencia que el caso exige.

Por otro lado, es considero muy recomendable que la Alta Dirección del MINAM tome conocimiento de esta situación que de comprobarse sería muy grave y podría afectar significativamente los resultados de las coordinaciones que se vienen realizando para lograr la implementación de un Sistema Nacional de Bioseguridad que sea seguro y capaz de ser transparente.

CONCLUSIONES

1.- De las 4 denuncias hasta ahora presentadas sobre la presencia de OVM no autorizados en el campo, centros de acopio o mercados locales, solo se ha atendido parcialmente la primera.

2.- Los resultados de los análisis realizados por el OSC de Agricultura, sobre la primera denuncia de presencia de OVM no autorizados en Barranca, presentarían serías inconsistencias que afectan no sólo la rigurosidad del estudio sino también la veracidad los resultados.

3.- Las liberaciones no autorizadas de transgénicos pueden en un tiempo determinado y en una magnitud impredecible con la información disponible a la fecha, impactar significativamente en la diversidad biológica, teniendo en cuenta la salud humana, sea por las prácticas que genera o por la falta de previsión en las medidas de manejo y control.

4.- Es importante involucrar a los actores que necesarios para lograra a la brevedad posible la verificación, o no, de esta y otras demandas y, en general para lograr un sistema de bioseguridad capaz de actuar no sólo en estos casos de emergencia, sino también en avanzar hacia un sistema regulatorio funcional.

RECOMENDACIONES

1.- Informar a la Alta Dirección

2.- Solicitar al INIA las aclaraciones necesarias y, dado lo especializado del tema, que se haga en el contexto de un grupo de expertos, convocados por recomendación del Grupo Técnico de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica (Acta de la Reunión Extraordinaria XXIII del Grupo Técnico de Bioseguridad[3])

3.- Solicitar los resultados del análisis de las contra muestras enviadas a laboratorios de detección de OVM en el extranjero, conforme se comprometieron, en la presentación de junio 2010 (diapositiva 37 de la presentación junio 2010).

4.- Por la naturaleza del tema, se recomienda involucrar en este proceso a actores provenientes de instancias académicas y regulatorias, como por ejemplo expertos en biología y genética molecular, representantes de los tres OSC, OEFA, instituciones que forman parte del Grupo Técnico Sectorial de Agricultura, entre otros.

5.- Solicitar a los Organismos Sectoriales Competentes, publicar los Planes de Emergencia a que están obligado en virtud de los Artículo 50° y 51° del DS N°0108-2002- PCM, para precaver, sobre todo respecto de las denuncias de la presencia de maíz transgénico no autorizados en Barranca y las otras localidades de la costa norte (maíz) y la sierra central (maíz y soya).

6.- Reforzar la instancia de consulta que es el Grupo Técnico de Bioseguridad a través de su ratificación en la Comisión Nacional de Diversidad Biológica. De hecho, debe haber una ratificación de su composición y funciones al inicio de este nuevo año conforme lo ha acordado el mismo GT.

Es todo cuanto puedo informar

Santiago Hilarión Pastor Soplín
BIÓLOGO
C.B.P. 7658

[3] http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2010/gtactas/gtbioseg_rexxiii(17-12-2010).pdf

"Año de la Consolidación Económica y Social en el Perú"
"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"

MINISTERIO DEL AMBIENTE
Dirección General de Diversidad Biológica
- DGDB -
16 DIC. 2010
RECIBIDO
Firma: Hora:

INFORME Nº 002 -2010-DGDB/ESYG

PARA	:	**DRA.MIRIAM CERDÁN QUILIANO** Directora General de Diversidad Biológica
DE	:	Eliana Yglesias Gálvez Especialista en Bioseguridad
ASUNTO	:	Evaluación del Informe Técnico: Verificación de la presencia de cultivos de maíz transgénico en el valle de Barranca
FECHA	:	14 de noviembre del 2010

Es grato dirigirme a usted a fin de saludarla y remitirle informe sobre el asunto de la referencia:

VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAIZ TRANSGÉNICOS EN EL VALLE DE BARRANCA.

Colaboraron en el informe la Blga. Emma Rivas Seoane[1] y el Bach. José Luis Vásquez Vegas[2].

Revisado por: Blgo. Santiago Pastor Soplín[3]

1 Introducción

A partir del mes de febrero de 2006 la Dra. Antonieta Gutiérrez y colaboradores iniciaron un estudio para determinar la presencia de material transgénico en campos de cultivo de maíz en la localidad de Barranca. Durante ese año se realizó la estandarización de protocolos de muestreo, la preparación del material vegetal, las tareas de extracción y cuantificación del ADN, y se ajustaron los protocolos de amplificación, detección y lectura de geles. Para finales del año 2006 se detectó la presencia del promotor 35S en algunas muestras, concluyéndose la presencia de este material en el Perú.

Estas investigaciones se continuaron durante el año 2007 buscando la verificación de la presencia de los transgenes para maíz, tanto en las muestras del año 2006 como en muestras obtenidas en el año 2007.

Estos resultados fueron comunicados en un reporte titulado "Investigaciones sobre la presencia de transgenes en Perú: caso maíz (*Zea mays* L.)". Este reporte concluyó que, a partir del análisis

[1] Magister en Bioquímica. Especialista de la Dirección General Diversidad Biológica del Ministerio del Ambiente
[2] Especialista de la Dirección General de Diversidad Biológica
[3] Maestro en Ciencias - Fisiología y Máster en Genética. Consultor en Recursos Genéticos y Bioseguridad para el Ministerio del Ambiente

de 58 muestras de granos de maíz amarillo duro, se detectaron los eventos transgénicos MON810 y NK603 en granos de maíz importados para uso industrial, y los eventos NK603 y Bt11 en granos cosechados en el valle de Barranca. El 17 de noviembre de 2007 se informa mediante nota periodística en el diario el Comercio sobre la presencia de transgénicos en 14 de 42 muestras procedentes de Barranca[4].

En Mayo de 2008 se presenta el reporte de la Dra. Gutiérrez y colaboradores durante el 13º Congreso Latinoamericano de Genética y VI Congreso Peruano de Genética realizado en Lima[5]. Posteriormente la Dra. Gutiérrez presenta un segundo informe "Monitoreo de transgenes en cosechas nacionales de maíz amarillo duro correspondiente al 2008"[6]. El 18 de mayo de 2009 en el diario Gestión se reporta la expansión de cultivos transgénicos en el Perú[7].

En el Foro Internacional "La Biotecnología Moderna en el Sector Agrario: Oportunidades y Desafíos", el 18 de junio de 2010, el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), en su Componente de Regulación de la Seguridad de la Biotecnología Agraria realiza la presentación titulada "VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA", que en adelante denominaremos "presentación junio 2010".

No se entregó el informe escrito que debía dar lugar a la "presentación junio 2010" y tampoco se entregó la versión impresa de dicha presentación; sólo se mostró en pantalla. Por ello, la "presentación junio 2010", se consideró como un avance con fines de divulgación, de lo que debiera ser un informe técnico escrito y exhaustivo en detalles indispensables para valorar la calidad del análisis realizado. Días más tarde, la versión pdf de la "presentación junio 2010" fue publicada en la página web institucional del INIA, desde donde fue obtenida para su publicación en el Centro de Intercambio de Información sobre Seguridad de la Biotecnología (CIISB o BCH Perú) (http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2010/presentaciones/pctvb.pdf).

2 Antecedentes

Con fecha 26 de Noviembre del 2010, la Dirección General de Diversidad Biológica recibió el Informe Técnico "VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA", el mismo que de conformidad con la función de información y transparencia, fue publicado en formato "pdf" en el BCH Perú (http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2010/presentaciones/informe_técnico.pdf). Este informe sujeto del presente análisis se considera como parte del mismo estudio y cuyo contenido debe corresponder a la "presentación junio 2010".

Se analiza los resultados presentados tanto en el "Informe octubre 2010" como los de la "presentación junio 2010", ambas bajo el mismo título "VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA.

Este "informe técnico octubre 2010" resume los trabajos realizados por INIA para determinar la posible presencia de cultivos de maíz GM en el Perú, reportada en dos notas periodísticas del 17 de noviembre de 2007 y 13 de julio de 2009, y en el reporte de la Dra. Antonieta Gutiérrez-Rosati y col. "Investigaciones sobre la presencia de transgenes en el Perú: Caso maíz (*Zea mays* L.)",

[4] http://elcomercio.pe/edicionimpresa/Html/2007-11-17/en_el_valle_de_barranca_ya_exi.html
[5] http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2009/reporte1.pdf.
[6] http://pe.biosafetyclearinghouse.net/actividades/2009/reporte2.pdf.
[7] http://gestion.pe/impresa/edicion/2009-05-18/2187

realizado a partir de muestras tomadas durante los años 2006 y 2007 en el valle de Barranca al Norte de Lima.

3 Análisis y comentarios sobre el Informe técnico de INIA

3.1 Sobre los antecedentes del estudio

En la página 2del "informe técnico octubre 2010" se indica la tasa de crecimiento interanual de la superficie de cultivos transgénicos en el mundo citando a James (2009) como fuente, y estableciendo que el incremento interanual (entre los años 2007 al 2009) del 7% ha ocurrido especialmente en América del Sur. Sin embargo, el análisis de los datos reportados por James para los años 2007 y 2009 respectivamente establece que el incremento para nuestra región habría sido del 4.7%, de acuerdo al cuadro adjunto **(Cuadro 1):**

Cuadro 1. Variación en superficie cultivada global de cultivos transgénicos

País		2007	2009	Variación
1	USA	57.7	64.0	6.30
2	Argentina	19.1	21.3	2.20
3	Brasil	15.0	21.4	6.40
4	Canadá	7.0	8.2	1.20
5	India	6.2	8.4	2.20
6	China	3.8	3.7	-0.10
7	Paraguay	2.6	2.2	-0.40
8	África del Sur	1.8	2.1	0.30
9	Uruguay	0.5	0.8	0.30
10	Filipinas	0.3	0.5	0.20
11	Australia	0.1	0.2	0.10
12	España	0.1	0.1	0.00
13	México	0.1	0.1	0.00
14	Bolivia	0.1	0.8	0.71
15	Burkina Faso	0.1	0.1	0.01
Totales		**114.5**	**133.9**	**19.4**

Fuente: James 2007, 2009

Se puede concluir entonces que la información de la referencia original (James 2009) es diferente a la que se consigna en el informe técnico del INIA.

3.2 Sobre los objetivos

Los objetivos señalados en el "informe técnico de octubre 2010" no coinciden exactamente con aquellos indicados en la "presentación junio 2010". Estas discrepancias se muestran en el **cuadro 2.**

Cuadro 2. Objetivos señalados para la Presentación junio 2010 y el Informe Técnico

Objetivos señalados	Presentación junio 2010		Informe Técnico Octubre 2010	
	Hojas	Granos	Hojas	Granos
Presencia promotor P35S y TNOS	x	x	x	x
Presencia de proteína CP4 ESPS del evento NK603 por inmunoensayos (tiras)	x		x	x
Presencia de proteína BT(Cry1Ab) del evento BT11 por inmunoensayos (tiras)	x		x	x
Presencia de evento BT11 por PCR	x	x	x	x
Presencia de evento NK603 por PCR	x	x	x	x
Presencia de evento T14/T25 por PCR			x	x
Presencia de evento 176 por PCR			x	x
Presencia de evento TC1507 por PCR			x	x
Presencia de evento MON810 por PCR			x	x

En los objetivos señalados en la "presentación junio 2010" no se incluyeron los eventos T14/T25 y MON 810, que si aparecen en el "Informe Técnico octubre 2010". Los objetivos indicados en este último indican la inclusión de otros dos eventos adicionales y consideran también la amplificación de los eventos 176 y TC1502. Como autoridad competente el INIA se recomienda considerar no sólo aquellos eventos detectados en el Perú (Gutiérrez-Rossati *et al.*, 2008), sino incluir además todos los eventos autorizados posibles para los cuales existen materiales de referencia.

3.3 Sobre el tamaño de muestra

En la "presentación junio 2010" no hubo consistencia[8] en el número y tipo de muestras empleadas en el estudio, lo que no permitió una evaluación adecuada de la validez y rigor en el proceso de muestreo. Hay inconsistencia en el tamaño y tipo de muestras número de muestras en el "informe técnico octubre 2010" el número final de muestras reportadas es diferente a dicha presentación **(Cuadro 3).**

En la páginas 3 y 16 del "informe técnico octubre 2010", se indican un total de 162 muestras empleadas para el estudio, número que no coincide con el reportado en la "presentación junio 2010" donde se indica un total de 164 muestras. Debe aclararse esta discrepancia e informar sobre el destino de las cuatro muestras presentes en los resultados de junio 2010 y ausentes en el "informe técnico octubre 2010". A partir de la información disponible se puede deducir que dos de las muestras eliminadas corresponderían a una proveniente de campos de cultivos, una muestra proveniente de mercados locales; adicionalmente, se han incorporado al análisis dos muestras provenientes de empresas semilleras y una proveniente de centro de acopio (avícola).

Con la información disponible, todo parece indicar que no hay correspondencia en cuanto al número y tipo de muestras entre la "presentación junio 2010" y el "informe técnico 2010", lo cual no debería pasar.

Cuadro 3. Diferencias en el número de muestras empleadas para el estudio entre Presentación Junio 2010 e Informe Técnico

Procedencia	Tipo	Cantidad de Muestras	
		"Presentación junio 2010"	Informe Técnico
Campo de cultivo	Hoja	134	134
Campo de cultivo	Grano	4	0
Centro de acopio (Avícola)	Grano	8	9
Semillera	Semilla	2	4
Mercados locales	Grano	16	15
Totales		**164**	**162**

Llama la atención la no inclusión de las muestras procedentes de campos de cultivo (grano). Demás está resaltar la importancia desde el punto de vista regulatorio, de conocer el resultado de los análisis de las muestras provenientes del campo de cultivo. En general, esta delicada parte del análisis no debería tener estas inconsistencias ya que afecta sustantivamente la certidumbre de los resultados finales.

3.4 Sobre la metodología para la detección de OVM por PCR

[8] En la "presentación de junio 2010", se presenta 164 muestras en la metodología (diapositiva 18) y 165 muestras en los resultados (diapositiva 32).

Extracción, cuantificación y preparación del ADN molde

En la "presentación junio 2010" se evaluó la integridad del ADN mediante un gel de agarosa (diapositiva 32), pero no mostró la evaluación de la **calidad del ADN** (pureza del ADN). Este indicador es sumamente importante pues permite establecer si el ADN extraído no se encuentra contaminado con proteínas, almidones o sales, los cuales influyen negativamente en la calidad del ADN y de la amplificación al interferir con la actividad de la enzima Taq polimerasa. Además, el transgén puede estar en valores menores al 1%, por lo que la falta de interferencia en la PCR para detectar un gen al 100%, no forzosamente indica la falta de inhibidores para detectar una secuencia al 1% o menos. Por ello, es necesario realizar otros ensayos para descartar la presencia de inhibidores que puedan afectar la eficiencia de la PCR y causar un resultado negativo falso (Longo *et al.*, 2005).

En el informe técnico aún no se presentan los rangos de pureza del ADN. Se sugiere presentar los datos sobre calidad del ADN, específicamente las lecturas de absorbancia en el rango 260/280nm.

Amplificación PCR, electroforesis y registro de resultados

Se menciona en el Informe Técnico que los protocolos y programas de amplificación PCR fueron estandarizados con el apoyo de una consultoría por el Dr. Daniel Clark de la Universidad Cayetano Heredia.

En la tabla 6 del "Informe técnico octubre 2010", en los ensayos múltiplex de evento específico para ZEIN01/ZEIN02 + Crya(b) 176-F / Cry1A(b) 176-R + E176 1-5-F / Cry 1A 1-3-R, la tabla da a entender que se trata de dos programas diferentes, el primero con solo 10 ciclos a 64° C y el segundo con 28 ciclos a 62° C, cuando en realidad se trataría de un solo programa con 10 ciclos a 64°C seguido inmediatamente de 28 ciclos a 62° C, sin la repetición de las fases de extensión final y predenaturación.

En la página 20 del "Informe técnico octubre 2010", se indica la procedencia de los controles positivos procedentes del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA). En estos casos, Bofini *et al* (2005) recomienda incluir, quizá como un anexo, las características y certificados correspondientes. La disponibilidad y calidad de material de referencia es información necesaria para la validación de los métodos, así como la disponibilidad de los datos informativos sobre el mismo. Se debe preferir material de referencia certificado sobre el cual hay suficiente información acerca de su calidad y origen, respecto de aquel sin certificación o con información pobre o deficiente (Zel *et al.*, 2008).

Los límites de detección son determinados a partir del análisis de muestras con una concentración conocida del analito, estableciendo el nivel mínimo al cual puede ser detectado de manera consistente (Bonfini *et al.*, 2001). El "Informe técnico octubre 2010" no precisa los límites de detección para los eventos ensayados, sea para el material proveniente de campo o para el material de referencia.

Respecto de los marcadores de peso molecular, éstos sirven de referencia para asignar los valores a los fragmentos amplificados, siempre que en las fotos se señale el peso de al menos una de sus bandas. Sin embargo, en ninguna de las fotos del "informe técnico octubre 2010" se señala el tamaño de las bandas. Sin esa información, la asignación de tamaño molecular podría parecer incierta o arbitraria. Tampoco se muestran todos los fragmentos de los que está compuesto el marcador, ni los valores en pares de bases correspondientes a cada uno de ellos. Otra práctica

frecuente que mejora la visualización de los resultados es que el marcador de peso molecular debe ser colocado en la parte media del gel y también en los extremos; no ha sido el caso en los geles presentados, limitando la certidumbre en la asignación de tamaño molecular a los segmentos amplificados.

3.5 Sobre los resultados

3.5.1 Sobre la extracción, cuantificación y preparación del ADN molde

3.5.2 Sobre la amplificación PCR, electroforesis y registro de resultados

Sobre la Detección de las secuencias P35S y Tnos (muestras provenientes de campos de cultivo)

Los resultados mostrados en "presentación junio 2010" de las separaciones electroforéticas muestran un orden de muestras en diferentes posiciones que el "informe técnico octubre 2010". Lo recomendable hubiera sido mantener el mismo orden y en la medida en la medida que se trata de un mismo análisis, los geles debieron ser los mismos.

Figura 1. Presencia del promotor 35S (195 bp) "Presentación junio 2010"

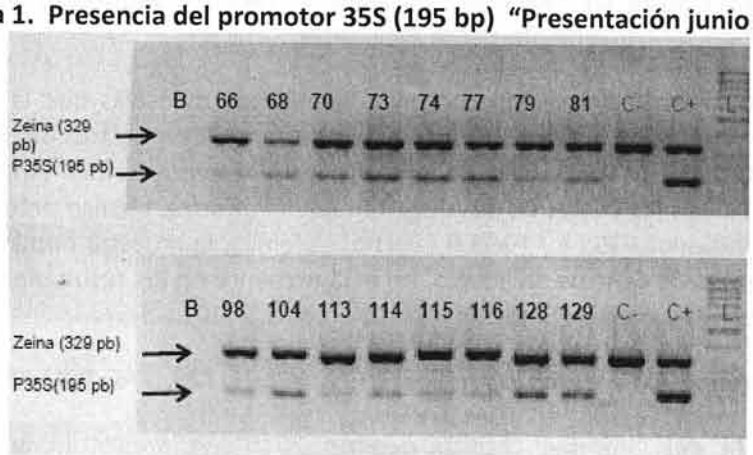


Figura 2. Presencia del promotor 35S (101 bp) en el Informe Técnico

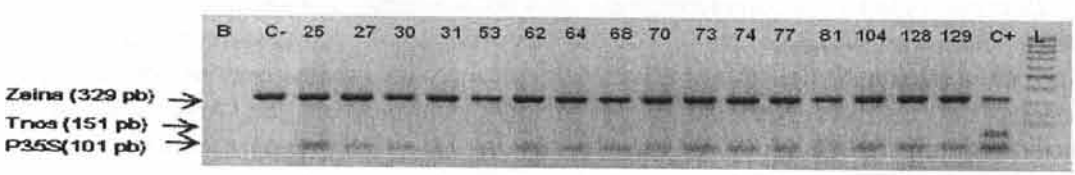
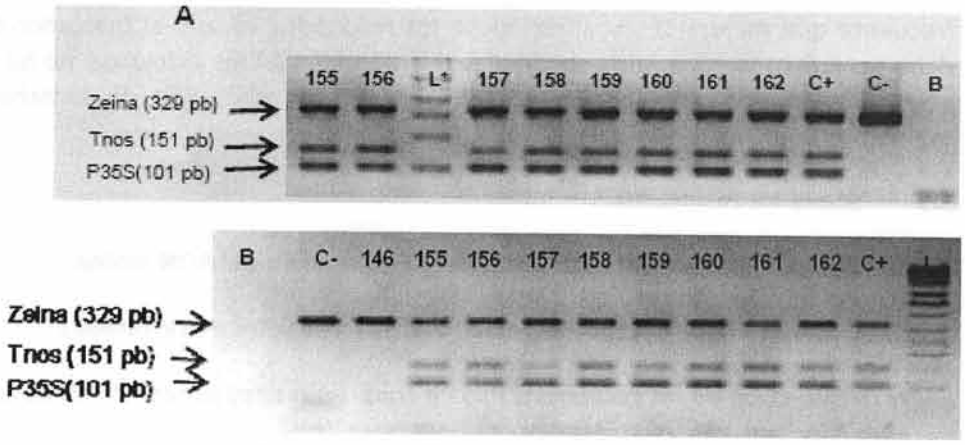


Figura 3. Comparación de los resultados presentados para screening de P35S y Tnos en muestras procedentes de centros de acopio



A Presentación Junio 2010: centros de acopio (granos)

B Informe técnico: centros de acopio

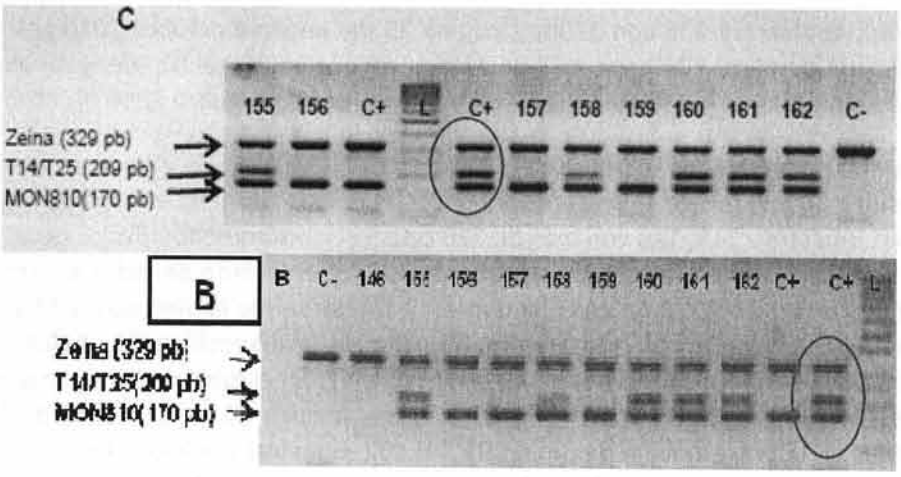
Esta inconsistencia entre las muestras del "Informe Técnico octubre 2010" y la "Presentación junio 2010", deben ser convenientemente explicadas.

El Informe octubre 2010 parece no contener las mismas muestras que la "Presentación junio 2010" como se observa en la Figura 1, donde se presentan las muestras 66, 79, 98, 113, 114, 115 y 116 con resultado positivo para la presencia del Promotor **35S** empleando el iniciador P35SL/P35SU (195bp) las cuales no se muestran en el "Informe técnico octubre 2010" (Figura 2) empleando el iniciador P35S F / P35S R (101bp). Además, la muestra número 146 en el caso de granos procedentes de centros de acopio, no está presente en los resultados de la "Presentación junio 2010"(figura 3) y si en el "Informe técnico octubre 2010".

Sobre la detección de los eventos específicos BT11, NK603, T25, 176, TC1507 y MON810

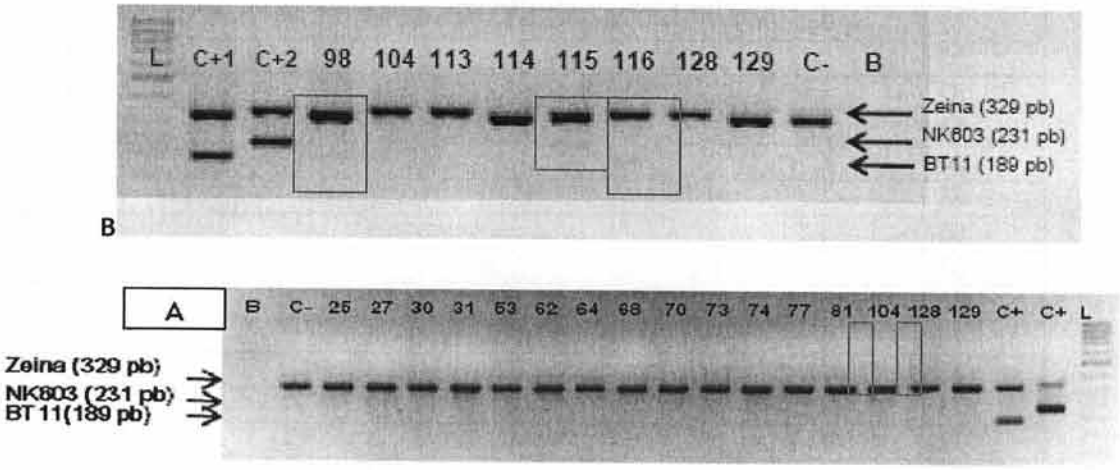
En la página 24 del "Informe técnico octubre 2010" se presentan los resultados de las separaciones electroforéticas para la detección de los eventos T14/T25 y MON810 para material procedente de centros de acopio (granos). En estos geles se muestra que el control positivo para T14/T25 presenta la banda correspondiente (209 bp) y además una segunda banda (170 bp) que correspondería a MON810. Los controles positivos deberían mostrar únicamente la banda para un evento, en la página 20 del "informe técnico octubre 2010" señala que los controles positivos obtenidos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA) son específicamente para Bt 11, NK603, MON810, TC1507, 176 y T25 y no para un control positivo con dos eventos (T14/T24 y MON810) como se observa (**figura 4**). La presencia de una segunda banda en el control positivo lo invalida como control. Este problema también es evidente en los resultados presentados en la presentación de junio 2010 (**figura 4**).

Figura 4. Comparación de los resultados presentados por el INIA (presencia de dos bandas en el control positivo para el evento T14/T25.



En la "presentación junio 2010" los resultados para la detección de eventos específicos NK603 y BT11 (diapositiva 33D, lado derecho) contiene muestras (98 y 116) en las que es evidente una banda de un peso molecular (189 bp) que corresponderían al evento BT11, y en la muestra 115 una banda de peso molecular (231 bp) que correspondería al evento NK603. Estas muestras (98, 115 y 116) no han sido incluidas en el nuevo análisis correspondiente a los mismos eventos en el "Informe técnico octubre 2010". Se debería haber incluido las muestras 98, 115 y 116 en el informe para poder establecer si la banda débil mencionada correspondía a un evento (Bt 11 o NK603), o a una banda inespecífica amplificada (**Figura 5**). La interpretación más precautoria debería ser considerar a estas bandas como eventos reales, y se tendría que haber realizado mayores pruebas de especificidad para establecer la identidad de las bandas o probar otros iniciadores validados y/o certificados. Esto no se ha hecho, lo cual podría perjudicar la veracidad de los resultados.

Figura 5. Comparación de los resultados presentados por el INIA para la detección de eventos específicos: Nk603 y BT11



B. Presentación junio 2010: campos de cultivo – eventos NK603 y BT11

A. Informe técnico: campos de cultivo – eventos NK603 y BT11

Otro observación recurrente es la presencia fragmentos de dos o más tamaños diferentes para el gen de la zeína para una misma muestra, en un primer caso, muestra 27 con 329 bp (página 24 del informe octubre 2010, gel A) y muestra 27 con más de 329bp, página 24 gel C del mismo

informe), la muestra 136 con 329bp (página 25 del informe octubre 2010 gel A) y muestra 136 del informe octubre 2010 con más de 329bp en página 25 gel B), de igual manera se presenta para las muestras 137 ,138, 148 y 149 del Informe Técnico octubre 2010 (Cuadro 4).

Algo similar ocurre con la muestra 114 con más de 329bp en el lado izquierdo inferior de la diapositiva 33 y la misma muestra con 329 bp en el lado derecho inferior de la figura, diapositiva 33 y las muestras 115, 116 con más de 329 bp en el lado izquiedo inferior de la figura, diapositiva 33 y las mismas muestras con un tamaño de 329 bp en el lado derecho inferior de la diapositiva 33 , muestra 128 con 329 bp en el lado inferior izquierdo de la diapositiva 33 y la misma muestra con más de 329 bp en el lado inferior derecho de la diapositiva 33, inclusive la muestra 113 presenta **dos** tamaños diferentes a 329 bp (cuadro 4). En el mismo cuadro se puede ver que entre la presentación de junio 2010 (P) y el informe técnico (I) presentado, de las 164 muestras (incluidas en la presentación de junio 2010) ó 162 muestras (incluidas en el informe técnico) sólo se presenta información para 52 de las mismas, que corresponde a un 32% de la información que debería estar presente en el Informe Técnico.

Cuadro 4. Diferencias en el número de pares de bases para el gen de la zeína y para la presencia del promotor 35S en la Presentación junio 2010 (P) e Informe Técnico (I)

	P	P	P	I	I	P	I	P	I
Nº Muestra	329bp	+ de 329 bp	- de 329bp -	329bp	+ de 329 bp-	195bp	195bp	101bp	101bp
	Zeina	Zeina	Zeina	Zeina	Zeina	P35S	P35S	P35S	P35S
25				1					1
26									
27				1	1				1
30				1					1
31				1					1
52									
53				1					1
62				1					1
63									
64				1					1
65									
66	1					1			
67									
68	1			1		1			1
70	1			1		1			1
73	1			1		1			1
74	1			1		1			1
77	1			1		1			1
79	1					1			
81	1			1		1			1
98	1		1			1			
104	1			1		1			1
113		1	1			1			
114	1					1			
115	1	1				1			
116	1	1				1			

128	1	1		1		1			1
129	1			1		1			1
136				1	1				
137				1	1				
138				1	1				
139				1					1
140				1					
141				1					1
142				1					1
143				1					
144				1					1
145				1					
148				1	1				
149				1	1				
150				1					
151				1					
152				1					
153									
155				1		1		1	1
156				1		1		1	1
157				1		1		1	1
158				1		1		1	1
159				1		1		1	1
160				1		1		1	1
161				1		1		1	1
162				1		1		1	1

Diferencias en el tamaño de los fragmentos del gen de zeína pueden también verse en los resultados incluidos en la presentación de junio 2010, donde las bandas correspondientes a este gen tiene posiciones y/o tamaños diferentes(Figura 6). Por ejemplo, las muestras 113 y 114 son diferentes si se compara el lado izquierdo y derecho de la figura. Más aún, las bandas correspondientes a la muestra 128 son diferente entre el lado izquierdo y derecho de la figura, y lo mismo ocurre con las bandas correspondientes a la muestra 116.

Figura 6. Ubicación de bandas para el gen de la zeína a partir de la "presentación junio 2010"

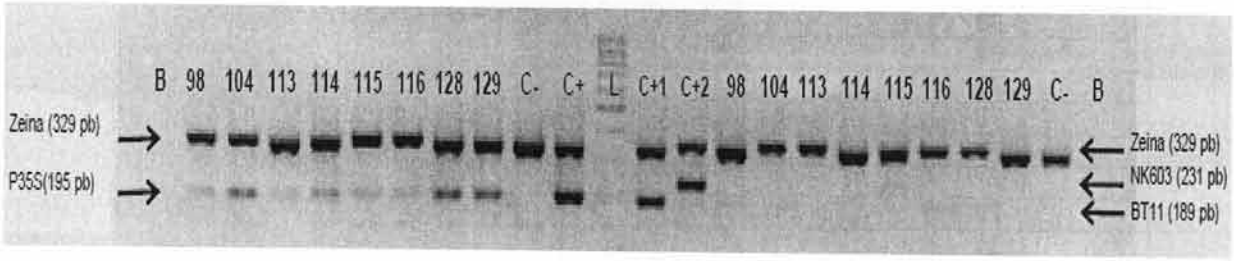
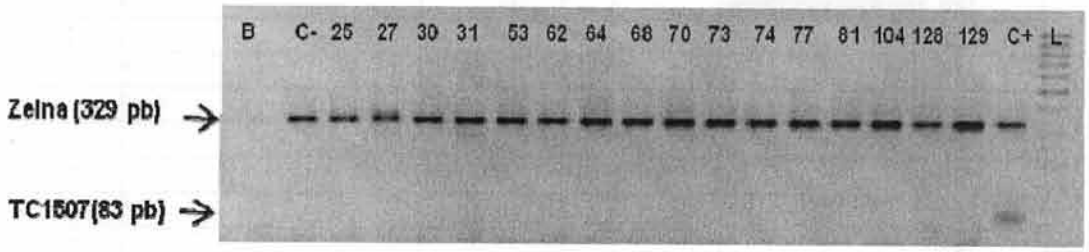


Figura 7. Ubicación de bandas para el gen de la zeína en el "Informe Técnico octubre 2010" donde se observan a las muestras 128 y 129 con un tamaño de 329 bp.



En el cuadro 5 se obseva que en la "Presentación junio 2010", 16 muestras son positivas para el promotor P35S (195 bp), mientras que en el Informe Técnico, 20 muestras dan positivo para el promotor 35S (101 bp), algunas de las cuales (muestras 68, 70, 73, 74, 77, 81, 104, 128 y 129) dan un resultado positivo con ambos iniciadores para el promotor 35S. El resultado del análisis del promotor 35S en ambos documentos sólo coincide en 9 muestras, cuando en realidad, tendrian que coincidir las 16 muestras. Es sumamente confuso que en ambos documentos se reporte 16 muestras positivas, pero habiendo al menos (07) muestras diferentes. Se recomienda explicar con mayor transparencia y claridad estos resultados.

Además, respecto de estas siete (07) de las muestras en las cuales se observó un resultado positivo en la "Presentación junio 2010", y que no han sido incluídas en el Informe Técnico, pueden plantearse algunos interrogantes ¿Son estás las muestras de ADN que fuerón inviables al análisis PCR y corresponden en su mayoría a las muestras de hojas colectadas en campos de cultivo en época de cosecha?

Cuadro 5. Presencia del promotor 35S en la Presentación Junio 2010 e Informe Técnico octubre 2010 con P35S (191bp) y P35S (101bp)

Nº de muestra	Presentación junio 2010	Informe técnico
	P35S (195bp)	P35 S (101 bp)
25		1
27		1
30		1
31		1
53		1
62		1
64		1
66	1	
68	1	1
70	1	1
73	1	1
74	1	1
77	1	1
79	1	
81	1	1
98	1	
104	1	1
113	1	
114	1	
115	1	
116	1	
128	1	1
129	1	1

139		1
141		1
142		1
144		1

Detección de los eventos específicos BT11 y NK603 por inmunoensayos

El informe muestra una imagen de la funcionalidad de las tiras reactivas para la detección de proteínas Roundup Ready y Bt-Cry1Ab/1Ac (Krishgen BioSystems). En los resultados del informe técnico se establece que no se ha detectado la presencia de proteínas correspondientes a los eventos NK603 y Bt-11, a pesar de haber encontrado muestras positivas para el promotor P-35S y también algunas muestras aunque con una señal débil como las muestras 98 y 116 para el evento BT11 y la muestra 115 para el evento NK603 en la figura inferior derecha de la diapositiva 33 La sensibilidad de estas pruebas es mucho menor que las pruebas de PCR y únicamente son capaces, en promedio, de detectar 1 grano positivo en 200 en comparación a las pruebas de PCR que pueden detectar 1 grano positivo en 3000-10000 granos (Ortiz, 2005).

El ADN y las proteínas transgénicas pueden ser detectados en una variedad de tejidos de estas plantas, incluyendo semillas y granos, y también alimentos altamente procesados derivados de ellos. Las tiras reactivas y la tecnología de ELISA son dos de los métodos utilizados para detectar la presencia de eventos transgénicos. Una limitación de esta tecnología es que la proteína debe estar esencialmente intacta y expresada en niveles altos en la planta para permitir su detención, si la proteína ha sido degradada, como ocurre comúnmente durante el procesamiento, el anticuerpo puede no reconocer a la proteína (Tanner, 2004).

3.6 Sobre la discusión de resultados y conclusiones

-¿Cuáles son las 7 muestras eliminadas? En el informe técnico no se especifica

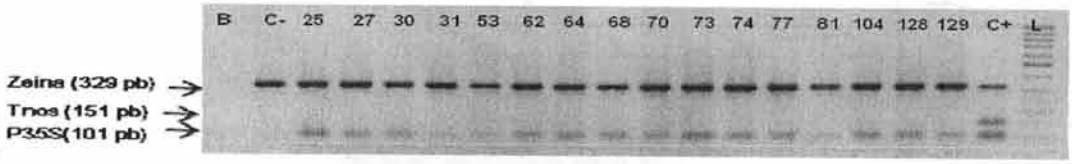
El informe debería tener un cuadro donde se muestre el número asignado a cada muestra evaluada, no como aparece en la tabla 3 del Informe Técnico octubre 2010, el cual indica el lugar, tipo de muestra y cuantas muestras fueron tomadas, pero no el número asignado a cada una de las muestras, con lo cual no podemos establecer cuales fueron las muestras eliminadas.

Según la metodología descrita en la página 14 del informe este señala que las muestras fueron tomadas de **preferencia** de hojas tiernas y sanas, sin embargo uno de los criterios de eliminación de las muestras fue el grado de deterioro de estas como se menciona en el inciso "b" de la página 28 del Informe Técnico octubre 2010, lo cual contradice la metodología aplicada.

-Para el caso de las 16 muestras que muestran bandas débiles

El hecho de que ciertas bandas muestren una señal débil (**figura 8**) comparadas con las del centro de acopio no quiere decir que el evento no esté presente o que, como se informa, sea un resultado falso positivo; también puede ser que las condiciones de trabajo u otros factores no fueron los más adecuados. La presencia de una banda débil del promotor debería obligatoriamente llevarnos a realizar otros ensayos para descartar la presencia de contaminación o problemas con la metodología aplicada o mal manejo de las muestras.

Figura 8. Presencia del promotor 35S (101 bp) para el gen de la zeína en "Informe Técnico octubre 2010.



El diseño apropiado de los iniciadores es importante para la detección específica de maíz GM presente dentro de muchas variedades transgénicas y para materiales alimenticios no procesados. Un método de detección que excluya cualquier juicio falso debido a contaminación debe realizarse usando un par de iniciadores para un gen de maíz GM, Rahman fue capaz de obtener datos de detección confiables y específicos, usando el par de iniciadores (Bt11 1-5 y Cry1 Ab 1-3), este fue diseñado para amplificar ADN de secuencias de tres organismos exógenos (parte del promotor de CaMV35S, intron del gen de maíz adh-1S, y parte del gen sintético cry1Ab), para prevenir una reacción falsa positiva en el presente estudio, como fue sugerido por Matsuoka *et al.* (2000).

4 Comentarios al informe técnico octubre 2010 de INIA

Muchos países latinoamericanos son signatarios del Protocolo de Bioseguridad del Acuerdo de Cartagena, sin embargo es muy poca la experiencia, a excepción de Argentina, sobre el uso de productos Agro biotecnológicos e implementación de mecanismos de bioseguridad. Este protocolo establece todo un sistema regulatorio para el intercambio y manejo de organismos vivos genéticamente modificados, con especial énfasis en el movimiento transfonterizo, y esto supone la conformación, no sólo de laboratorios especializados en la detección, cuantificaron y trazabilidad de los OGM, sino también implica una demanda de entrenamiento y capitación del personal para llevar a cabo esa tarea. Para ello es necesario desarrollar programas de capacitación que incluyan el desarrollo de metodologías sensibles y especificas para la detección y cuantificación del contenido de secuencias derivadas de OGM, y también implica desde el punto de vista práctico, la armonización de estas metodología adoptadas regionalmente.(Galindo Castro 2007)

El promotor 35S del CaMv (*Cauliflower mosaic virus*) es un elemento regulador de la expresión de los genes, utilizado en la mayoría de las plantas transgénicas que se están comercializando, razón por la cual se emplea para la detección de OVM (Wolf et al., 2000). Una amplificación de este promotor se considera una fuerte evidencia de la presencia de material genético proveniente de OVM; sin embargo, se debe considerar la posibilidad de contaminación (Longo et al., 2005), ante lo cual existen diferentes métodos para verificar los resultados positivos. Estos métodos varían en confiabilidad, precisión y costo. El método más sencillo para verificar una amplificación positiva del promotor 35S, es el uso corte con la enzima de restricción Xmm1, la misma que debe digerir el fragmento de 195bp en dos fragmentos de 115 y 80 bp, respectivamente (Meyer, 2003). En caso contrarió, se trataría de un falso positivo. Esta prueba es económica y fácil.

El informe técnico no presenta un listado completo de las muestras que permita establecer la procedencia y naturaleza de las mismas, ni la codificación empleada o los resultados obtenidos para cada una y en una secuencia preestablecida. Esta deficiencia, ya señalada en los resultados de la "presentación junio 2010", se mantiene en el "Informe técnico octubre 2010" y no permite realizar un análisis crítico de los resultados presentados.

El uso de métodos validados y estandarizados mediante pruebas interlaboratorio ("comparison test") contribuyen a un nivel uniforme de desempeño, a la vez que permiten homologar y comparar los resultados. La prueba de que los métodos de screening detectan los eventos

objetivos en plantas OVM debería deducirse no solo de acuerdo a la información de las secuencias, sino también se debe demostrar mediante el uso de material de referencia, particularmente para definir la especificidad y sensibilidad del método. Esto es importante no solo para plantas OVM ya autorizadas comercialmente (liberadas), sino también para cultivos OVM en fase final de desarrollo que puedan ser comercializados en un futuro cercano.

Los métodos de screening son una parte muy importante de la práctica de detección de OVM, en particular cuando no hay métodos específicos por evento. Resultados positivos del screening, por ejemplo para la secuencia P-35S, pueden ser indicativas de la presencia de plantas transgénicas, y se puede confirmar si se excluye la contaminación por CaMv DNA. Para tener la capacidad de detectar tantos eventos GM en plantas como sea posible, no es suficiente realizar un screening para P-35S y T-nos, adicionalmente, se debe hacer el screening para otros elementos que puedan proveer de información sobre la presencia de plantas GM (Waiblinger *et al.*, 2010).

No se ha incluido las especificaciones técnicas de los materiales de referencia, que debieran ser enviados por el proveedor y colocados como un anexo. Esto es especialmente indicado para poder entender el caso del control con dos bandas (doble positivo de eventos diferentes) cuando lo recomendable es que los controles sean para eventos únicos. Por otro lado, la falta de límites de detección y la ausencia de los ensayos para determinar tales límites, constituye un vacío crítico que de no ser atendido puede poner en duda la validez de los resultados presentados en el informe.

Los métodos de PCR y el uso de tiras reactivas son métodos cualitativos diseñados para realizar un análisis previo y rápido. Si existe sospecha de presencia de transgénicos (en este caso debido a un reporte previo) entonces el curso lógico de acción no solamente termina con estas dos tipos de pruebas, en especial si hay algún tipo de resultados positivos. Análisis adicionales que podrían considerarse incluyen:

- Real-time PCR (empleando *taqman probes* o *SYBR Geen*) que permite cuantificar la proporción del trasgén,
- *Southern blot* para asegurar que lo que se detectó con el PCR realmente corresponde a un trasgén y no a una amplificación inespecífica o un falso positivo.

Adicionalmente, si se detecta proteínas, se deberían realizar pruebas de:

- ELISA
- Western blot teniendo todos los estándares necesarios (proteínas, anticuerpos, etc.).

Por los vacíos identificados en el Informe octubre 2010 y las inconsistencias entre el informe y los resultados presentados en junio del 2010, es muy recomendable, se revisen exhaustivamente los aspectos observados y se genere una nueva y definitiva versión del Informe sobre la presencia o no de maíz OVM en el Valle de Barranca.

5 Bibliografía Consultada

1 Adugna, A. & Tewodros Mesfin, T. 2008. Detection and quantification of genetically engineered crops. Journal of SAT Agricultural Research 6.

2 Bonfini, L., Heinze, P., Kay, S. & Van den Eede, G. 2001. Review of GMO detection and quantification techniques. European Commission, Joint Research Centre. Institute for Health and Consumer Protection. Italy.

3 Galindo,C. 2007. Detección de organismos genéticamente modificados (OGMs) en Venezuela. Com. Fac. Agron. Conferencia.

4 Gutiérrez –Rossati, A.;P.D. Poggi; G.M. Gálvez y RR Cáceres. 2008. Investigaciones sobre la presencia de transgenes en Perú: caso maíz (*Zea mayz L.*). Revista Latinoamericana de Genética.2º época, vol.1, Nº1 G.V. 89

5 GMDD. 2010. GMO detection method Database. http://gmdd.shgmo.org/primer/view/eventspecific/79.

6 James, C. 2009. Global Status of Commercialized Biotech/GM crops: 2007 ISAAA Brief #39. ISAAA, Ithaca, NY, USA.

7 James, C. 2007. Global Status of Commercialized Biotech/GM crops: 2007 ISAAA Brief #37. ISAAA, Ithaca, NY, USA.

8 KRISHGEN BioSystems. 2009. Qualitative ELISA for Bt-Cry1Ab/1Ac. Immunoassay for qualitative screening of Cry1Ab and Cry1Ac proteins in transgenic crops. KRISHGEN BioSystems. Cat. No: KBA001D.

9 Lee, H.-U., Park, Y.-H., Kim, J.-K., Park, K.-W. & Kim, Y.-M. 2004. Qualitative PCR method for detection of genetically modified maize lines NK603 and TC1507. Agric. Chem. Biotechnol. 47(4): 185-188.

10 Lockwood, D.R., Richards, C.M. & and Gayle M. Volk, G.M. 2007. Probabilistic models for collecting genetic diversity: Comparisons, caveats, and limitations. Crop Sci 47: 861-868.

11 Longo, F., Forero, C., Rodríguez, F. & Vásquez, E. 2005. Guía Práctica para el Desarrollo de los Ensayos de Laboratorio. Seminario Taller "Detección de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) en Granos y Alimentos. Proyecto GEF-BM Bioseguridad Colombia.

12 Meyer, R. 2003. Detection Methods for Genetically Modified Crops. Pp. 188-204. In, Heller, K.J. (Ed.). Genetically Engineered Food: methods and Detection. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

13 Ortiz,S., Ezcurra, E., Schofel, F., Acevedo,F., Soberón, J. 2005 Absence of detectable transgenes in local landcraces of maiz in Oaxaca, Mexico (2003-2004) .PNAS vol.102 Nº35

14 Piñeyro-Nelson, A., Van Heerwaarden, J., Perales, H.R., Serratos-Hernández, J.A., Rangel, A., Hufford, M.B., Gepts, P., Garay-Arroyo, A., Rivera-Bustamante, R. & Álvarez-Buylla, E.R. 2009. Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. Molecular Ecology 18: 750-761.

15 Sieradzki, Z., Mazur, M. & Kwiatek, K. 2008. Validation of procedures based on PCR reactions for detection and identification of genetically modified maize and soybean. Bull Vet Inst Pulawy 52: 611-614.

16 Tanner, S., Jenkins, G. & Kendall, D. 2004. Technologies (ELISA, PCR, etc.) and standards to Test for Transgenic Traits. International Quality Grains Conference Proceedings

17 Waiblinger, H.U., Grohmann, L., Mankertz, J., Engelbert, D. & Pietsch, K. 2010. A practical approach to screen for authorized and unauthorized genetically modified plants. Anal. Bioanal. Chem. 396: 2065-2072.

18 Wolf, C., Scherzinger, M., Wurz, A., Pauli, U., Hubner, P. & Luthy, J. 2000. Detection of cauliflower mosaic virus by the polymerase chain reaction: testing of food components for false-positive 35S-promoter screening results. Eur. Food Res. Technol. 210: 367-372.

19 Zel, J., Mazzara, M., Savini, C., Cordeil, S., Camloh, M., Stebih, D., Cankar, K., Gruden, K., Morisset, D., Van Den Eede, G. 2008. Method validation and quality management in the flexible scope of accreditation: An example of laboratories testing for genetically modified organisms. Food Analytical Methods 1: 61–72.

APÉNDICE

Lista de abreviaturas y acrónimos

ADN. Ácido desoxirribonucleico.

BCH. Centro de Intercambio de Información sobre la Seguridad de la Biotecnología.

bp. Pares de bases (base pairs).

Bt. *Bacillus thuringiensis*.

CaMv. Virus del mosaico de la coliflor (Cauliflower mosaic virus).

ELISA. Ensayo por inmuno absorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

GM. Genéticamente modificado.

INIA. Instituto Nacional de Innovación Agraria.

OGM. Organismo genéticamente modificado.

OVM. Organismo vivo modificado.

PCR. Reacción de polimerasa en cadena.

WB. Western blot.

Es todo en cuanto puedo informar.

Atentamente,

Eliana Yglesias Gálvez

Especialista en Bioseguridad

EYG/ERS/JVV

Grupo Técnico de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica CONADIB
Acta Reunión Extraordinaria XXIII
Sala de Reuniones del MINAM
17/12/2010 – 9:00 -13:00h.

INFORMES
Con el quórum del reglamento se inicio la reunión a las 11:19 h.
Habrá un proceso de ratificación de los miembros y composición del Grupo Técnico a cargo de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica CONADIB.
Proceso de firma (un año plazo, plenos poderes a nombre de la Vice Ministra Rosario Gómez) y ratificación del Protocolo de Nagoya Kuala Lumpur. Proceso de ratificación a cargo de la Dirección de Tratados de RREE, parte del cual es la consulta a los Sectores. Una vez que el Perú lo ratifica, debe esperar a que hagan lo mismo hasta 40 países, y 90 días mas tarde, entrará en vigor.
Avance en la revisión y modificatoria de la Ley N° 27104. Durante el 2010, se ha avanzado solamente hasta el artículo 13. Se considera de máxima prioridad terminar con la revisión y propuesta de modificatoria de la Ley 27104.
Ya se encuentra disponible el formato del Segundo Informe Nacional sobre Implementación del Protocolo de Cartagena. Se acordaron las acciones correspondientes para su elaboración y envío en el plazo establecido por la Secretaría.
Informe sobre la Lista de Expertos (http://pe.biosafetyclearinghouse.net/roster/experts-search.shtml?searchid=466983)
Informe sobre curso:**"Bioseguridad y Biotecnología"** http://lacbiosafety.org/index.php/es/eventos, presentado por MINAM. Se comentó que entre las presentaciones, hubo una del INIA en la que se invitó a analizar los resultados de su evaluación de las muestras tomadas en Barranca. Para el INIA los resultados presentados son definitivos y demuestran la inexistencia de los transgénicos en los campos de cultivo de maíz en el valle de Barranca. Atendiendo la invitación del INIA, se hizo un análisis de la información presentada tanto en el Seminario de junio 2010, así como en el informe escrito distribuido a las instituciones en octubre de 2010. Ambos documentos de autoría del INIA, pueden ser obtenidos en la página inicial del BCH Perú (http://pe.biosafetyclearinghouse.net). Al revisar estos documentos se ha identificado algunas inconsistencias y vacios de información que requieren ser sujeto de un mayor análisis. Para ello se propone realizar un taller convocando a los expertos en genética y biología molecular identificados en el proceso de construcción de la lista de expertos para el Protocolo de Cartagena, o aquellos que sugiera las instituciones.

Otro aspecto importante a ser comentado respecto del curso Bioseguridad y Biotecnología de LAC Biosafety, fue la propuesta de investigación adaptativa de parte de la Dra. Susana Sirvas para iniciar ensayos con Salmón transgénico en la sierra del Perú. Ella informó que hay conversaciones con las autoridades del Vice Ministerio de Pesquería a fin de lograr la autorización para estos ensayos. En otra charla dictada por el Dr. Alexander Grobman, se puso énfasis en el potencial económico y oportunidad comercial que significaría la introducción del salmón transgénico en la sierra del Perú.
ACUERDOS
Desarrollar un taller con expertos moleculares de la lista para analizar los resultados del análisis de las muestras sobre presencia no autorizada de maíz transgénico en Barranca, programado para el jueves 13 de enero de 10:00 a 13:00h.
Realizar un taller de dos días para terminar la revisión y modificación de la Ley N° 27104, con la activa participación especialmente de las áreas técnica y legal de los Organismos Sectoriales Competentes (OSC) e instituciones relevantes, a más tardar en primera quincena de febrero de 2011. El objetivo será terminar la revisión y propuesta de modificación de la Ley N° 27104. Esta actividad tendrá primera prioridad entre las actividades del 2011.
Prioridad para completar el primer semestre: elaboración del Segundo Informe Nacional sobre el nivel de Implementación del Protocolo de Cartagena. Fecha limite para versión final 30 de junio de 2011; fecha limite de entrega en Montreal (11 de septiembre de 2011).
Conformación de la lista nacional de expertos para el análisis de riesgo y la toma de decisiones, a lo largo del año, debiendo terminarla a fines de 2011.
La reunión finalizó a las 13:30h

PERÚ | Ministerio del Ambiente | Viceministerio de Desarrollo Estratégico de Recursos Naturales

Participantes Reunión Extraordinaria XXIII del Grupo Técnico de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Diversidad Biológica

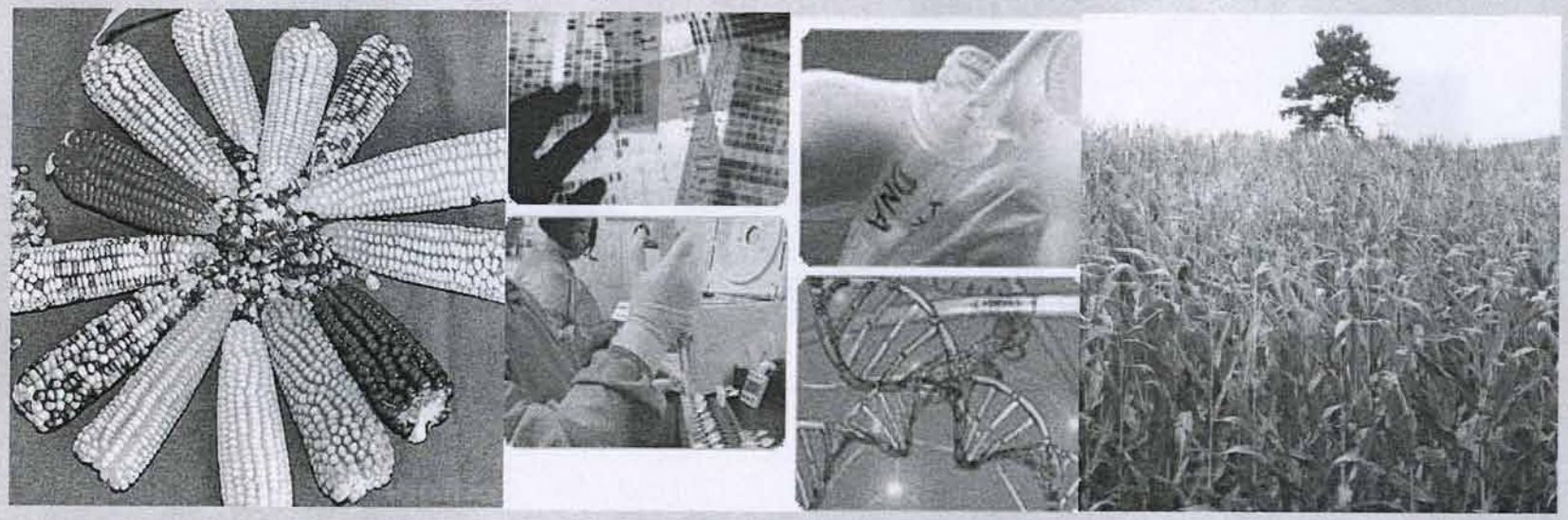
17-12-2010

Gladys García P. RREE	Alberto López S. UNMSM	Nicolasa Sumiano DIGESA
Santiago Pastor MINAG	Eliana Yglesias MINAM	Ysabel Negrón PRODUCE
Emma Rivas MINAM	José Vásquez MINAM	Juan Quispe Mejia INS

Foro Internacional

"La Biotecnología Moderna en el sector agrario: Oportunidades y desafíos"

VERIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE CULTIVOS DE MAÍZ TRANSGÉNICO EN EL VALLE DE BARRANCA



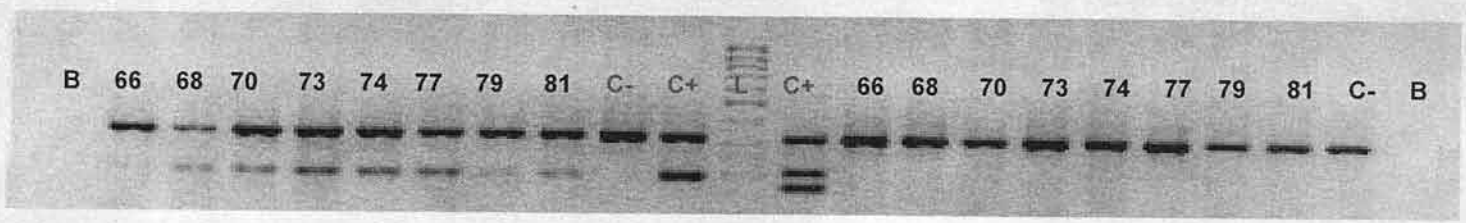
COMPONENTE REGULACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LA BIOTECNOLOGÍA AGRARIA

INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA

18 de junio del 2010

CONCLUSIONES

1. Se ha detectado la presencia de los promotores P-35S (P35S y P35SU+P35SL) en las muestras de maíz provenientes de los campos de cultivo del valle de Barranca.
2. No se ha detectado la presencia de las proteínas CP4 EPSPS y CP4 EPSPS L214P pertenecientes al evento NK 603.
3. No se ha detectado la presencia de las proteínas Bt (Cry1Ab) pertenecientes al evento Bt-11.
4. No se ha detectado la presencia de los eventos específicos NK 603, ni Bt-11.



ACCIONES A REALIZAR

1. Identificar los eventos específicos en las muestras que amplifican para las regiones del promotor P35S en las muestras de maíz provenientes de los campos de cultivo del valle de Barranca.
2. Remitir las contramuestras hacia laboratorios de detección de OVM en el extranjero para confirmar nuestros resultados.
3. Solicitar la inmediata aprobación del Reglamento Sectorial de Bioseguridad, que nos permita implementar debidamente los procedimientos en el TUPA del INIA, para evitar la informalidad de los cultivos GM.