16.

FECHA	sábado, 2 de diciembre de 2023

Señores
UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
BIBLIOTECA
Facatativá

UNIDAD REGIONAL	Extensión Facatativá
TIPO DE DOCUMENTO	Trabajo De Grado
FACULTAD	Ciencias Agropecuarias
NIVEL ACADÉMICO DE FORMACIÓN O PROCESO	Pregrado
PROGRAMA ACADÉMICO	**Ingeniería Agronómica**

El Autor(Es):

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS	No. DOCUMENTO DE IDENTIFICACIÓN
Caro Plazas	Leidy Carolina	1070974158

Director(Es) y/o Asesor(Es) del documento:

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS
Gallardo Echeverri	Iván Ricardo

TÍTULO DEL DOCUMENTO
Diferencia Entre Los Métodos De Identificación De Organismos Genéticamente Modificados (OGM) Utilizados En El Laboratorio Del ICA.

SUBTÍTULO (Aplica solo para Tesis, Artículos Científicos, Disertaciones, Objetos Virtuales de Aprendizaje)

EXCLUSIVO PARA PUBLICACIÓN DESDE LA DIRECCIÓN INVESTIGACÍON	
INDICADORES	**NÚMERO**
ISBN	
ISSN	
ISMN	

AÑO DE EDICION DEL DOCUMENTO	NÚMERO DE PÀGINAS
27/11/2023	24

DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS (Usar 6 descriptores o palabras claves)	
ESPAÑOL	**INGLÉS**
1. OGM	GMO
2. PCR	PCR
3. Eventos	Events
4. Cultivos transgénicos	Transgenic crops
5.	
6.	

FUENTES (Todas las fuentes de su trabajo, en orden alfabético)

-Asociación de Biotecnología Vegetal Agrícola - Agro-Bio. (2022). Cultivos transgénicos aumentan un 31% en 2021. https://agrobio.org/noticias/transgenicos-en-colombia-2021

-Bowen, B.A., Bruce, W.B., Lu, G., Sims, L.E. & Tagliani, L.A. (2008). Patente: Promotores sintéticos. https://patentimages.storage.googleapis.com/b7/6c/55/8f9eb9ceb2288c/ES2292234T3.pdf

-Centro Nacional de Metrología - CENAM. (2013). Manual de Protocolos de Medición de Organismos Genéticamente Modificados. Centro Nacional de

Metrología. México. https://conacyt.mx/cibiogem/images/cibiogem/redes/Red-Laboratorios/Docs/requerimientos-ingreso/MANUAL_DE_PROTOCOLOS_DE_MEDICION_DE_OGMs.pdf

-Díaz-Granados, C. y Chaparro-Giraldo, A. (2012). Métodos de transformación genética de plantas. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000100007

-Espinosa-Asuar, L. (2007). Guía práctica sobre la técnica de PCR. https://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/PCR%20guia.pdf

-Folch i Montori, I. (2007). Mecanismos de detección de organismos genéticamente modificados. https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/185-enero-2007/mecanismos-de-deteccion-de-organismos-geneticamente-modificados

-Grupo Semillas (2019). Cultivos transgénicos en Colombia. Impactos ambientales y socioeconómicos. Acciones sociales en defensa de las semillas criollas y la soberanía alimentaria. Informe País, 2018. https://www.semillas.org.co/apc-aa-files/5d99b14191c59782eab3da99d8f95126/informe-pais-ogm-2018_web.pdf

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (s.f.). Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) https://www.ica.gov.co/areas/subgerencia-analisis-y-diagnostico/laboratorio-de-organismos-geneticamente-modificado

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2015). Resolución 3168 de 2015. https://www.ica.gov.co/getattachment/4e8c3698-8fcb-4e42-80e7-a6c7acde9bf8/2015R3168.aspx

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2018). METODO ANALITICO: PCR en tiempo real para la detección cualitativa de Organismos Genéticamente Modificados en semillas de algodón, maíz, soya y arroz. V.1

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2022). MÉTODO ANALÍTICO; Cuantificación (m/m), de los elementos transgénicos 35s, Tnos y gen endógeno adh1 en semillas de maíz por PCR en tiempo real. V.2

-Instituto Colombiano Agropecuario – ICA (2022). Instructivo: Análisis de muestras en el Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados. V.1

-Instituto Colombiano Agropecuario – ICA (2023). Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados (OGM). Portafolio de servicios. https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/Subgerencia-Analisis-y-Diagnostico/Laboratorio-de-Organismos-Geneticamente-Modificado/PORTAFOLIO-SERVICIOS-DEL-LOGM-2023-1.pdf.aspx?lang=es-CO

-International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications - ISAAA. (2023). Aprueban eventos de cultivos transgénicos en Colombia. Base de datos de aprobación de GM. Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones de Agrobiotecnología – ISAAA. https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/approvedeventsin/default.asp?CountryID=CO&Country=Colombia

-International Organoization for Standardization - ISO (2005a). 21571:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Nucleic acid extraction. Geneva, Switzerland.
-International Organoization for Standardization - ISO (2005b). 21569:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Qualitative nucleic acid based methods. Geneva, Switzerland.
-International Organoization for Standardization - ISO (2005c). 21570:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Quantitative nucleic acid based methods. Geneva, Switzerland.
-GAHCIM. (2019). Informe GAHCIM Trigo HB4-PAT. Grupo ad-hic sobre e identificación molecular. https://www.gub.uy/sites/gubuy/files/documentos/publicaciones/anexo_2_informe_gahcim_trigo_hb4-pat_0.pdf
-Leguizamón-Guerrero, J.E., Vela-Rojas, A.F., Arias-Cortés, M.M., & Cifuentes-Fernández, L.F. (2018). Panorama general de los organismos genéticamente modificados en Colombia y en el mundo: Capacidad nacional de detección. Revista Colombiana de Biotecnología. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752018000200101#f3
-Martínez, M., Cabrera, J.L., & Herrera, L. (2004). Las plantas transgénicas: una visión integral. https://www.redalyc.org/pdf/730/73000202.pdf
-Mazo-Castaño, C y Rodríguez-Susa, M. (2021). Modelo de dispersión de polen de maíz transgénico en el municipio de Tierralta (Córdoba, Colombia). https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/1637/1127#citations
-Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca - MAGyP (2012). Segunda Fase de Evaluación. DD TC1507XMON810XNK603 Y TC1507XMON810. https://magyp.gob.ar/sitio/areas/biotecnologia/conabia/_pdf_dd/DOC_DEC_%20TC1507XMON810XNK603%20Y%20TC1507XMON810.pdf
-Oviedo-Bolaños, K., García-González, J., Solano-González, S., Martínez-Debat, C., Sancho-Blanco, C. & Umaña-Castro, R. (2020). Detección del promotor 35S mediante PCR tiempo-real: indicador de transgenicidad en alimentos y *Gossypium* sp. https://www.redalyc.org/journal/437/43761812016/html/
-Serrato-Díaz, A., Flores-Rentería, L., Aportela-Cortez, J. & Sierra-Palacios, E. (2008). PCR: reacción en cadena de la polimerasa. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, 53. https://www.researchgate.net/profile/Jorge-Ramirez-Salcedo/publication/296695965_Microarreglos_de_DNA_Fabricacion_Proceso_y_Analisis/links/56d88bc408aee73df6ccfd74/Microarreglos-de-DNA-Fabricacion-Proceso-y-Analisis.pdf#page=69
-Servicio Agrícola y Ganadero – SAG. (s.f.). Métodos disponibles para detección de OGM´S. Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile https://www.sag.cl/ambitos-de-accion/metodos-disponibles-para-deteccion-de-ogms

-Sociedad Española de Biotecnología – SEBIOT (2007). Plantas Transgénicas [preguntas y Respuestas]. https://sebiot.org/userfiles/files/Plantas_transgenicas.pdf

-Trejo-Saavedra, D.L., Rodríguez-Negrete, E.A., & Rivera-Bustamante, R.F. (2015). Detección de transgenes en Organismos Genéticamente Modificados (OGM) y sus subproductos. Acta Universitaria. https://www.redalyc.org/pdf/416/41648311003.pdf

-Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM. (s.f.). PCR en tiempo real. Facultad de Química. https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii/pcr-en-tiempo-real/#:~:text=La%20prueba%20se%20basa%20en,y%20amplificado%20billones%20de%20veces.

-Van Den Eede G. (2011). Compendium of reference methods for GMO analysis. EUR 24526 EN. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union, JRC64876. https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC64876

-Verdugo-Fuentes, A.A., Castro-Espinoza, L., Gutiérrez-Coronado, M.A. & Martínez-Carrillo, J.L. (2019). Metodologías para el análisis de expresión y cuantificación de proteínas conferidas en tejidos de cultivos GM. Revista mexicana de ciencias agrícolas. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342019000400815

-Villalba, A. (2009). Resistencia a herbicidas. Glifosato. https://www.redalyc.org/pdf/145/14512426010.pdf

RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLÉS

(Máximo 250 palabras – 1530 caracteres, aplica para resumen en español):

La generación de cultivos transgénicos ha ido aumentando significativamente en los últimos años. Debido a esto, cada país debe disponer de un ente, el cual se encargará de autorizar, controlar y dar seguimiento a las actividades basadas en el uso de estos Organismos Genéticamente Modificados (OGM); en Colombia el ente encargado para el sector agrícola es el Ministerio de Agricultura a través del Instituto Colombiano Agropecuario – ICA, donde se cuenta con un laboratorio diseñado para la detección de OGM, con protocolos estandarizados en tres matrices principales: maíz, algodón y soya. Dicha detección se realiza mediante la técnica de PCR en tiempo real.

The generation of transgenic crops has been increasing significantly in recent years. Because of this, each country must have a body in charge of authorizing, controlling and monitoring activities based on the use of these Genetically Modified Organisms (GMOs); in Colombia, the body in charge for the agricultural sector is the Ministry of Agriculture through the Colombian Agricultural Institute - ICA, where there is a laboratory designed for the detection of GMOs, with standardized protocols in three main matrices: corn, cotton and soybeans. This detection is carried out using the real-time PCR technique.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Por medio del presente escrito autorizo (Autorizamos) a la Universidad de Cundinamarca para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre mí (nuestra) obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que, en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.

En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autoriza a la Universidad de Cundinamarca, a los usuarios de la Biblioteca de la Universidad; así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado una alianza, son:
Marque con una "X":

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer.	X	
2. La comunicación pública, masiva por cualquier procedimiento o medio físico, electrónico y digital.	X	

3. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previa alianza perfeccionada con la Universidad de Cundinamarca para efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones.	X	
4. La inclusión en el Repositorio Institucional.	X	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso mi (nuestra) obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

Para el caso de las Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, de manera complementaria, garantizo(garantizamos) en mi(nuestra) calidad de estudiante(s) y por ende autor(es) exclusivo(s), que la Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía en cuestión, es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi(nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro (aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de mí (nuestra) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaré (continuaremos) conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, *"Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores"*, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Universidad de Cundinamarca

está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

NOTA: (Para Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía):

Información Confidencial:

Esta Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de la investigación que se adelanta y cuyos resultados finales no se han publicado. **SI ___ NO** _X_.
En caso afirmativo expresamente indicaré (indicaremos) en carta adjunta, expedida por la entidad respectiva, la cual informa sobre tal situación, lo anterior con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

LICENCIA DE PUBLICACIÓN

Como titular(es) del derecho de autor, confiero(erimos) a la Universidad de Cundinamarca una licencia no exclusiva, limitada y gratuita sobre la obra que se integrará en el Repositorio Institucional, que se ajusta a las siguientes características:

a) Estará vigente a partir de la fecha de inclusión en el repositorio, por un plazo de 5 años, que serán prorrogables indefinidamente por el tiempo que dure el derecho patrimonial del autor. El autor podrá dar por terminada la licencia solicitándolo a la Universidad por escrito. (Para el caso de los Recursos Educativos Digitales, la Licencia de Publicación será permanente).

b) Autoriza a la Universidad de Cundinamarca a publicar la obra en formato y/o soporte digital, conociendo que, dado que se publica en Internet, por este hecho circula con un alcance mundial.

c) Los titulares aceptan que la autorización se hace a título gratuito, por lo tanto, renuncian a recibir beneficio alguno por la publicación, distribución, comunicación pública y cualquier otro uso que se haga en los términos de la presente licencia y de la licencia de uso con que se publica.

d) El(Los) Autor(es), garantizo(amos) que el documento en cuestión es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi (nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro(aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales.

Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos es de mí (nuestro) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

e) En todo caso la Universidad de Cundinamarca se compromete a indicar siempre la autoría incluyendo el nombre del autor y la fecha de publicación.

f) Los titulares autorizan a la Universidad para incluir la obra en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

g) Los titulares aceptan que la Universidad de Cundinamarca pueda convertir el documento a cualquier medio o formato para propósitos de preservación digital.

h) Los titulares autorizan que la obra sea puesta a disposición del público en los términos autorizados en los literales anteriores bajo los límites definidos por la universidad en el "Manual del Repositorio Institucional AAAM003"

i) Para el caso de los Recursos Educativos Digitales producidos por la Oficina de Educación Virtual, sus contenidos de publicación se rigen bajo la Licencia Creative Commons: Atribución- No comercial- Compartir Igual.

j) Para el caso de los Artículos Científicos y Revistas, sus contenidos se rigen bajo la Licencia Creative Commons Atribución- No comercial- Sin derivar.

Nota:
Si el documento se basa en un trabajo que ha sido patrocinado o apoyado por una entidad, con excepción de Universidad de Cundinamarca, los autores garantizan que se ha cumplido con los derechos y obligaciones requeridos por el respectivo contrato o acuerdo.

La obra que se integrará en el Repositorio Institucional está en el(los) siguiente(s) archivo(s).

Nombre completo del Archivo Incluida su Extensión (Ej. Nombre completo del proyecto.pdf)	Tipo de documento (ej. Texto, imagen, video, etc.)
1. Diferencia Entre Los Métodos De Identificación De Organismos	Texto

Genéticamente Modificados (OGM) Utilizados En El Laboratorio Del ICA. Pdf	
2.	
3.	
4.	

En constancia de lo anterior, Firmo (amos) el presente documento:

APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS	FIRMA (autógrafa)
Caro Plazas Leidy Carolina	

21.1-51-20.

DIFERENCIA ENTRE LOS MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGM) UTILIZADOS EN EL LABORATORIO DEL ICA.

DIFFERENCE BETWEEN THE METHODS OF IDENTIFICATION OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS (GMOS) USED IN THE ICA LABORATORY.

Caro–Plazas, L.C.
Universidad de Cundinamarca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Ingeniería Agronómica, Extensión Facatativá

Resumen

La generación de cultivos transgénicos ha ido aumentando significativamente en los últimos años. Debido a esto, cada país debe disponer de un ente, el cual se encargará de autorizar, controlar y dar seguimiento a las actividades basadas en el uso de estos Organismos Genéticamente Modificados (OGM); en Colombia el ente encargado para el sector agrícola es el Ministerio de Agricultura a través del Instituto Colombiano Agropecuario – ICA, donde se cuenta con un laboratorio diseñado para la detección de OGM, con protocolos estandarizados en tres matrices principales: maíz, algodón y soya. Dicha detección se realiza mediante la técnica de PCR en tiempo real.

Palabras clave: OGM, PCR, Eventos, Cultivos transgénicos

Abstract

The generation of transgenic crops has been increasing significantly in recent years. Because of this, each country must have a body in charge of authorizing, controlling and monitoring activities based on the use of these Genetically Modified Organisms (GMOs); in Colombia, the body in charge for the agricultural sector is the Ministry of Agriculture through the Colombian Agricultural Institute - ICA, where there is a laboratory designed for the detection of GMOs, with standardized protocols in three main matrices: corn, cotton and soybeans. This detection is carried out using the real-time PCR technique.

Key words: GMO, PCR, Events, Transgenic crops

Introducción

En la ingeniería genética vegetal se incluyen varios métodos que complementan los procesos tradicionales de mejoramiento genético (Díaz Granados y Chaparro Giraldo, 2012), lo que permite modificar la composición genética de una planta de interés, mediante la implementación de técnicas de biología molecular donde se puede extraer, modificar, manipular y transferir material genético de un organismo a otro sin importar sus barreras filogenéticas (Leguizamón *et al*, 2018). El material genético puede provenir de otra planta, de un hongo, de un virus, de una bacteria o incluso un animal (Trejo-Saavedra *et al*, 2015); lo que resulta en nuevas características en la planta modificada. Dentro de lo que más se busca en las plantas es la resistencia a factores

bióticos como insectos, enfermedades y malezas; y en factores abióticos un menor contenido de agua, valores de pH ácido o básico, o alta concentración de sales, tolerancia a herbicidas y un mayor contenido de nutrientes (proteínas, ácidos grasos, vitaminas o minerales). Dichos organismos son denominados Organismos Genéticamente Modificados - OGM o Cultivos Genéticamente Modificados - CGM en el caso de especies cultivadas (Leguizamón *et al*, 2018).

Los transgénicos son organismos vivos que han sido modificados genéticamente en un laboratorio. En el caso de las plantas sus genomas han sido manipulados mediante la ingeniería genética, ya sea introduciendo uno o más genes nuevos o cambiando las funciones de sus propios genes, obteniendo como resultado plantas transgénicas con nuevas características (SEBIOT, 2007).

La generación de un transgénico consta de dos pasos: transformación y regeneración. Por un lado, la transformación consiste en introducir el gen de interés generalmente, en el genoma de protoplastos de la planta de interés a transformar; mientras que la regeneración consiste en obtener una planta completa a partir de las células vegetales transformadas (SEBIOT, 2007)

Según la Sociedad Española de Biotecnología – SEBIOT (2007), la introducción de un nuevo gen en el genoma de la célula vegetal, se realiza mediante dos métodos principalmente. El más “común” utiliza factores de virulencia de una bacteria del suelo, Agrobacterium, que en condiciones naturales es capaz de transferir genes a las células vegetales. Bajo condiciones controladas, se reemplaza el ADN que se transmite durante el ataque de la bacteria, por el ADN de interés, para que este sea introducido y transportado al núcleo de la célula vegetal. Por otro lado, el método alternativo consiste en insertar directamente los genes en el núcleo de la célula vegetal. Para ello, una de las técnicas más utilizadas es la biobalística que consiste en el disparo de microproyectiles de oro o tungsteno (Díaz Granados y Chaparro Giraldo, 2012; Martínez et al, 2004), recubiertos del ADN de interés a las células, proyectiles que penetran e integran el nuevo ADN en su genoma. Después de que las células vegetales cambian, toda la planta debe regenerarse. Este proceso implica cultivar trozos de tejido vegetal o protoplastos en un medio de cultivo que favorezca la regeneración de nuevas plantas, inoculados con Agrobacterium o disparados con microproyectiles. En esta etapa, es importante que solo se recuperen células de tejido transformadas. Esto se hace introduciendo genes adicionales que confieren rasgos selectivos junto con el transgén. Por ejemplo, se han utilizado genes de resistencia a los antibióticos para garantizar que solo las células modificadas puedan sobrevivir en presencia de antibióticos. Estos genes son responsables de la señalización selectiva, pueden estar presentes en todas las células de las plantas transgénicas regeneradas o pueden eliminarse mediante diversos procedimientos. (SEBIOT, 2007).

Los cultivos transgénicos en Colombia se empezaron implementar en el año 2000 con el cultivo de clavel de flor azul para la producción de flor cortada, mediante la Resolución 1218 del 18 de mayo de 2000 del Instituto Colombiano Agropecuario. Para el 2016 se aprobaron 162 autorizaciones para la introducción de especies de algodón, maíz, soya y arroz, destinadas para la siembra controlada o comercial en diferentes regiones geográficas, como fuente de materia prima para la producción de alimentos para consumo humano o animal (Leguizamón *et al*, 2018).

Para el año 2021, la Asociación de Biotecnología Vegetal Agrícola - Agro-Bio mencionó que los cultivos transgénicos en Colombia aumentaron un 31.6% con respecto al año anterior. Según el ICA, en total se sembraron 150.451 hectáreas, de las cuales 142.975 hectáreas son de maíz GM, 7.464 de algodón GM y 12 hectáreas de flores azules. Además, los departamentos que más utilizan esta tecnología son el Meta con 52.134 ha, Tolima con 38.913 ha, Córdoba con 19.228 ha, Valle del Cauca con 13.800 ha y el Cesar con 7.325 ha de cultivos genéticamente modificados (Agro-Bio, 2022).

En Colombia hay tres Autoridades Nacionales Competentes encargadas de autorizar, realizar el control y seguimiento de las actividades con OGM e imponer medidas y sanciones necesarias:

1. Ministerio de Salud y Protección Social: para el uso de OGM en la alimentación humana
2. Ministerio de Ambiente: para los OGM de uso ambiental
3. Ministerio de Agricultura a través del Instituto Colombiano Agropecuario - ICA: para los OGM de uso agrícola, pecuario, pesquero, forestal y agroindustrial.

El ICA cuenta con el laboratorio de Organismos Genéticamente Modificados (OGM), el cual brinda servicios analíticos bajo la norma ISO 17025:2017, realizando análisis de detección de OGM y detección de proteínas recombinantes con el “fin de apoyar el esquema de certificación de semillas, la inspección en puertos y aeropuertos y el control de liberación intencional y no intencional en campo” (ICA, s.f.).

Los métodos que se emplean para la detección de transgénicos son los métodos cualitativos que son los basados en la detección inmunológica de proteínas o ADN y los métodos cuantitativos basados únicamente en la cuantificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (qPCR):

En primer lugar, los métodos de detección inmunológica se desarrollan de dos formas: las tiras reactivas o strips de flujo lateral y el ensayo de inmunodetección ligado a enzima (ELISA). Las tiras reactivas se pueden usar para determinar la ausencia o presencia de una proteína específica, lo que permite realizar un análisis de tipo cualitativo o semicuantitativo, incluyendo las consideraciones estadísticas sobre el muestreo. El ensayo ELISA se basa en el uso de anticuerpos específicos para detectar la proteína (antígeno) de interés y eliminar las proteínas que se encuentren en el producto de análisis (Verdugo *et al*, 2019).

Por otro lado, para realizar la cuantificación de ADN se requiere de una extracción de ADN, donde se pueden emplear diferentes técnicas con el objetivo de obtener suficiente cantidad de dicha molécula de buena calidad, es decir con la menor degradación posible y libre de contaminantes, ya que estos pueden reducir la eficiencia de la prueba qPCR, lo cual conlleva a resultados erróneos (Folch y Montori, 2007). En la norma ISO 21571:2005 se describen 8 métodos que se pueden emplear para la extracción de ADN de plantas y sus derivados, de los cuales los más empleados son: método básico de CTAB, método básico fenol/cloroformo, método básico de silicio y con kit comercial (ISO, 2005a).

Actualmente, a nivel del laboratorio de detección de Organismos Genéticamente Modificados, el ICA basa sus protocolos de análisis en la detección de estos, con base en las metodologías de detección de moléculas de ADN.

Es de tener en cuenta que la especificidad de los métodos de cuantificación que utilizan el ADN como blanco para determinar la presencia de un OGM, depende de las propiedades específicas de la secuencia de ADN. Las diferentes aplicaciones y clasificaciones de especificidad son las siguientes (CENAM, 2013):

a. Métodos de screening o tamizaje: detectan secuencias de ADN que se encuentran en varios, pero no en todos los eventos de transformación. Estas secuencias también se pueden encontrar en material no modificado genéticamente, por ejemplo, debido a la presencia de virus o bacterias de donde provienen las secuencias objetivo. Los métodos de tamizaje pueden ser útiles para averiguar si es probable que un material sea derivado de un OGM, ejemplo de los métodos de tamizaje son las pruebas para detectar el promotor CaMV 35S y el terminador Tnos (CENAM, 2013).

b. Métodos constructo-especifico: detectan secuencias presentes únicamente en material derivado de un OGM. La detección de un constructo puede ser suficiente para identificar el evento de transformación del que deriva el ADN, pero el mismo constructo puede haber sido utilizado en más de una especie o más de un evento de transformación y el número de copias completas y/o truncadas de constructos por genoma haploide puede variar entre los eventos (CENAM, 2013).

c. Métodos evento-especifico: detectan ADN que se encuentra exclusivamente en el material derivado de un evento de transformación, por lo general una secuencia de ADN que abarca el sitio de unión entre el ADN introducido y el genoma de la planta huésped. El número de copias de la secuencia de ADN evento-especifico es siempre uno por genoma GM haploide. Cuando se utiliza un método validado de detección evento-especifico mediante PCR en tiempo real (qRT-PCR), también se puede cuantificar la cantidad de ADN derivado de un OGM en particular (CENAM, 2013).

d. Métodos de detección taxón-especifico: identifica un taxón, por lo general una especie. Los métodos específicos para un taxón pueden ser útiles para determinar la presencia, calidad y cantidad de ADN derivado de un taxón y se utilizan como el punto de referencia para la cuantificación relativa del material derivado de un OGM (CENAM, 2013).

El objetivo de este trabajo es dar a conocer cuáles son las diferencias de los métodos analíticos que implementa el laboratorio del ICA para la detección de OGM en material vegetal de algodón, maíz y soya.

Materiales y métodos

Este trabajo surge como parte del proceso de la práctica académica que se realizó en el laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados del ICA, el cual está ubicado en el Centro de Investigación Tibaitatá en Mosquera, Cundinamarca.

Durante la práctica se realizó la revisión de los dos métodos analíticos que se utilizan en el laboratorio para la detección de OGM del tejido vegetal (semillas o tejido foliar) en algodón, maíz y soya, para así conocer que eventos como constructos genético que se constituyen en su sentido más amplio por: una región promotora, una región codificante y una región terminadora; y que elementos como una única secuencia de ADN que hace parte de un evento; se detectan, cuál es el método de detección que usa el laboratorio en cada matriz y cuáles son las diferencias entre estos métodos.

Además, se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos, documentos y bases de datos relacionados con organismos genéticamente modificados en Colombia, métodos de detección y eventos aprobados en Colombia. Para esta búsqueda se consultaron bases de datos como Google académico, Scielo y Redalyc.

Resultados

Luego de la revisión e indagación de los protocolos de análisis de muestras para la detección de OGMs por parte del ICA se identificó un procedimiento que se describe a continuación.

Para acceder a los servicios del laboratorio, el cliente debe presentar los siguientes documentos: la forma de solicitud, el comprobante de pago y el memorando institucional (este aplica para muestras oficiales o de apoyo institucional). Junto a ello se deben entregar las muestras cumpliendo las siguientes condiciones: deben estar en buen estado de conservación, libre de patógenos, insectos o tejido necrótico. Y la cantidad de las muestras debe ser de 1 kg para semilla o 15 hojas mínimo para poder ser procesadas.

Una vez estas muestras son aceptadas por el laboratorio se les asigna un código y una hoja de ruta, luego se debe transcribir toda la información consignada en la solicitud a la base de datos de muestras para analizar y se le asignan las muestras a un analista. El analista revisa que las muestras cumplan con todas las condiciones necesarias para el análisis y verifica la información de la solicitud.

Según el tipo de muestra se continua con el protocolo según:

Para semillas se procede a la preparación de las muestras que consta de un lavado el cual se les realiza con agua destilada y agitación constante hasta eliminar cualquier sustancia. Luego se transfieren las semillas a un horno de secado sobre una bandeja de papel kraft a 56°C durante 3-4 horas o el tiempo necesario para eliminar la humedad. Después estas semillas se almacenan en bolsas de polietileno con cierre hermético a temperatura ambiente.

Luego se proceda a la molienda de las semillas secas con el fin de reducir el tamaño de las partículas, esto se realiza en un molino por 2min a 600 rpm o en licuadora industrial por 30 segundos. Posteriormente las muestras molidas se tamizan en un tamiz de acero inoxidable de máximo 500 μm. Estas muestras son almacenadas en bolsas de polietileno con cierre y en dos tubos de 1.5ml se deposita 100 mg del material y se almacenan a 4°C para su posterior análisis

Para tejido foliar a todas las hojas se les realiza 3 cortes en forma de cuadro de $1cm^2$, estos cortes se depositan en bolsas estériles para macerar, luego estas bolsas se dejan en nitrógeno líquido por unos minutos para luego ser maceradas con un pistilo, de este macerado se toman 100 mg y se depositan en tubos de 1.5 ml y el resto del material se deja en la bolsa estéril y se almacenan a -80°C

En la figura 1 se observa de manera general de cuál es el proceso que se realiza en la detección de Organismos Genéticamente Modificados en semillas de maíz, algodón y soya.

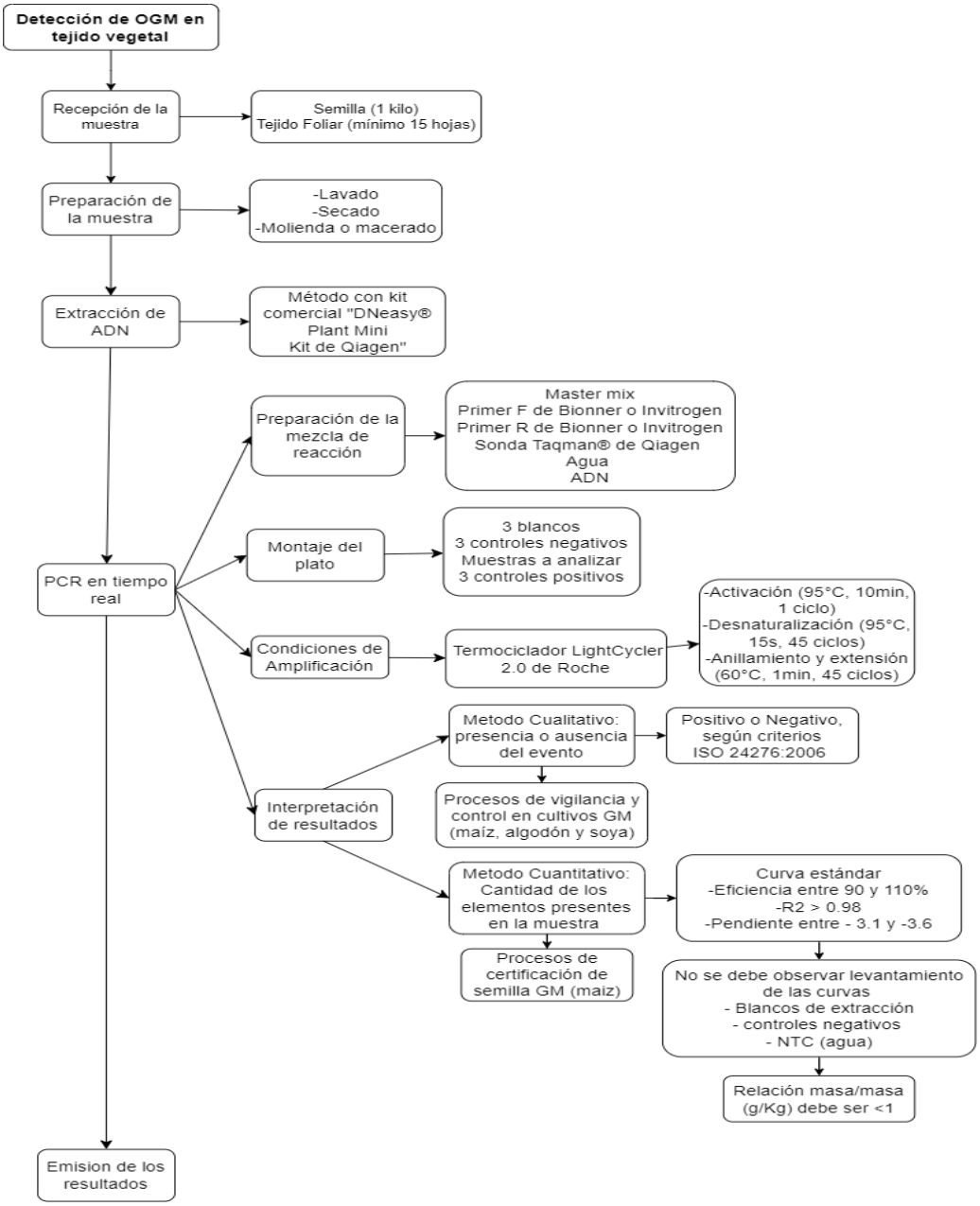

Figura 1. Diagrama para el proceso de analisis en la deteccion de OGM.

En el Laboratorio OGM del ICA se trabaja bajo la técnica de PCR en tiempo real en la detección cualitativa y cuantitativa de las tres matrices (maíz, algodón y soya). La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es una técnica utilizada en el campo de la biología molecular, la cual permite obtener múltiples copias (amplificación) de un fragmento de ADN de interés, utilizando dos secuencias de oligonucleótidos cortas denominadas primers, iniciadores o cebadores (Primer Forward y Primer Reverse) (Espinosa, 2007). La amplificación del ADN es un proceso cíclico que consiste en la desnaturalización del ADN de doble cadena por calentamiento, alineamiento de los primers con la secuencia complementaria de ADN a una temperatura adecuada, y extensión de los primers que están unidos a ambas cadenas individuales por un ADN polimerasa (Serrato *et al*, 2008).

La PCR en tiempo real o qPCR es una técnica que permite identificar la presencia de un evento específico o de un OGM mediante la detección de secuencias de ADN compartidas entre múltiples eventos OGM. Una de sus ventajas, es la alta sensibilidad y especificidad para cada evento o elemento genético (SAG, s.f.). Según la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM, s.f.) menciona que "la PCR en tiempo real es una modalidad del PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectado y cuantificado a medida que la reacción avanza, es decir: "En tiempo real" esto se logra incorporando una molécula fluorescente que se asocia al ADN amplificado, donde el incremento de esta fluorescencia es la proporcional al incremento de la cantidad de moléculas de ADN amplificadas en la reacción."

Con los tubos de 1.5 ml ya sea con material proveniente de semillas o de hojas, se procede a realizar la extracción ADN, en este caso el laboratorio del ICA usa el kit comercial "DNeasy® Plant Mini Kit de Qiagen" el cual contiene: columnas blancas, columnas lilas, tubos colectores de 2ml, Buffer AP1(romper los lípidos que rodean la membrana celular del tejido), Buffer P3 (neutralizador que se utiliza para purificar el ADN plasmidico), Buffer AW1 (desnaturalizar las proteínas), Buffer AW2 (eliminar sales), Buffer AE, RNAse A (Purificación de ADN libre de ARN) y el protocolo el cual menciona el paso a paso para realizar el proceso de extracción de ADN del tejido vegetal a analizar.

Luego de realizar la extracción de ADN este, se debe cuantificar en el Nanodrop y debe tener una concentración entre 3 ng/uL y 30 ng/uL con una calidad > a 1,7 (relación de absorbancia 260/280), de no cumplirse estos parámetros se deberá repetir el proceso de extracción. Este ADN se debe conservar a -20°C

Según lo encontrado en los dos instructivos del laboratorio:

> "METODO ANALITICO: PCR en tiempo real para la detección cualitativa de Organismos Genéticamente Modificados en semillas de algodón, maíz, soya y arroz."

> "MÉTODO ANALÍTICO; Cuantificación (m/m), de los elementos transgénicos 35S, t-NOS y gen endógeno *adh*1 en semillas de maíz por PCR en tiempo real."

Lo que diferencia un método al otro es lo siguiente:

Método Cualitativo

Para el desarrollo del método cualitativo se procede a realizar la mezcla reacción para PCR en tiempo real, esta mezcla contiene Master mix, Primer Forward, Primer Reverse (se utilizan específicamente según el evento o elemento a buscar, ya sea para Screening constructo-específico en Maíz, Algodón y Soya; detección evento-específica en Maíz y detección evento-específica en Algodón), sonda y Agua. Los volúmenes de los reactivos varían de acuerdo con la especificidad del método. Esta mezcla se deposita en cada pozo de la placa o tirilla de acuerdo con el volumen que corresponda y se adiciona el ADN de las muestras.

En el diseño de la placa (Figura 2.) se debe contar con 3 NTC (No Template Control, por sus siglas en inglés) donde se puede emplear agua libre de ácidos nucleicos; 3 controles negativos como muestras de ADN libre de eventos transgénicos; las muestras a analizar (cada muestra debe tener dos repeticiones) y 3 controles positivos (muestras que contienen el evento a detectar).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		NTC (agua)			M2 -R1			M6 -R1			M10 -R1	
B					M2 - R2			M6 - R2			M10 - R2	
C					M3 -R1			M7 -R1			M11 -R1	
D		Control Negativo			M3 - R2			M7 - R2			M11 - R2	
E					M4 -R1			M8 -R1				
F					M4 - R2			M8 - R2			Control Positivo	
G		M1 -R1			M5 -R1			M9 -R1				
H		M1 - R2			M5 - R2			M9 - R2				

Figura 2. Diseño de placa para análisis cualitativo. Esta placa está compuesta por tres NTC (No Template Control) pozos A2, B2 y C2; tres controles negativos pozos D2, E2 y F2, las muestras (cada muestra debe tener dos repeticiones) y 3 controles positivos pozos F11, G11 y H11.

Luego se coloca la placa o tirillas en el termociclador, se selecciona el programa que se desea correr, dicho programa nos da las condiciones de amplificación según el método que se desea analizar (cualitativo o cuantitativo), luego de unas horas el programa nos arrojara unos datos y dichos datos se procede a la interpretación de resultados según a los criterios de aceptación del método para así generar un reporte de resultados el cual se le hace llegar al cliente.

El método cualitativo se utiliza para establecer la presencia o ausencia de un evento (tabla 1), elemento, gen o proteína (tabla 2) en material vegetal (semillas o tejido foliar) de maíz, algodón y soya (ICA, 2022), el cual se utiliza para procesos de vigilancia y Control.

Tabla 1. Detección de eventos en semillas de maíz, algodón y soya.

Matriz	Evento	Rasgo GM
Maíz	Bt11, Mon810, TC1507	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a insectos lepidópteros
	NK603, GA21	Tolerancia al herbicida glifosato
	Mon89034	Resistencia a insectos lepidópteros
	MIR162	Resistencia a insectos lepidópteros, metabolismo de manosa
	MIR604	Resistencia a insectos coleópteros, metabolismo de manosa
Algodón	Mon1445, Mon88913, GHB614	Tolerancia al herbicida glifosato
	Mon531, Mon15985	Resistencia a insectos lepidópteros
	LLcotton25	Tolerancia al herbicida glufosinato
	GHB119, T304-40	Tolerancia al herbicida Glufosinato, resistencia a insectos lepidópteros
Soya	GTS-40-3-2, Mon89788	Tolerancia al herbicida glifosato
	Mon87701	Resistencia a insectos lepidópteros

Tabla 2. Proteínas transgénicas en semillas de maíz, algodón y soya.

Matriz	Proteína	Gen
Maíz	Cry1Ab	*cry1Ab*
	CP4 EPSPS	*cp4epsps*
	Cry3Bb	*cry3Bb*
	Cry1F	*cry1F*
	PAT (pat)	*pat*

	Cry34	*cry34*
	MCry3A	*mcry3A*
	Cry2A	*cry2A*
	VIP3A	*vip3A(a)*
Algodón	Cry1Ac	*cry1Ac*
	Cry2A	*cry2A*
	2mEPSPS	*2mepsps*
	PAT (bar)	*bar*
Soya	CP4 EPSPS	*cp4epsps*
	DMO	*dmo*
	PAT/pat	*pat*
	Cry1Ac	*cry1Ac*

Además, se hace la detección del promotor FMV promotor Actina, Gen *bar*, Gen *cry1Ab* y el Gen *cp4epsps*.

El promotor 35S del *Virus del mosaico de la coliflor* es el encargado de dirigir la expresión de los genes introducidos en los protoplastos de dicotiledóneas y monocotiledónea (Bowen *et al*, 2008), regulan la transcripción y hace parte de los constructos de eventos (Oviedo-Bolaños *et al*, 2020).

El terminador de la Nopalina Sintetasa de *Agrobacterium tumefaciens* (t-NOS) es la secuencia encargada de terminar la transcripción y hace parte de los constructos de eventos (Oviedo-Bolaños *et al*, 2020)

Según (Thompson y col., 1987, como se citó en GAHCIM, 2019) menciona que “el gen *bar*, proveniente de *Streptomyces hygroscopicus*, codifica para la enzima fosfinotricina acetil-transferasa (PAT), que aporta a la planta el fenotipo de tolerancia a herbicidas basados en glufosinato de amonio, permitiendo el uso de estos herbicidas para la selección de las plantas transformadas y el control de malezas en cultivo”.

El gen *cry1Ab* codifica la proteína Cry1Ab derivada de *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki y confiere resistencia a ciertos insectos Lepidópteros (MAGyP, 2012).

Villalba (2009, p.180) menciona que “el gen *cp4epsps* derivado de la cepa CP4 de *Agrobacterium tumefaciens*, codifica la enzima C4-EPSPS altamente resistente al glifosato. Esta enzima sólo difiere en el aminoácido de la versión de las plantas

(alanita por glicina). En presencia de glifosato, las plantas que expresan C4-EPSPS continúan la síntesis de aminoácidos aromáticos".

En el caso de la interpretación de los resultados, el resultado de la PCR en tiempo real será positivo o negativo de acuerdo a las especificaciones de la norma ISO 24276:2006 (ICA, 2018)

Método Cuantitativo

El método cuantitativo, se utiliza para establecer la cantidad (en relación m/m) de los elementos 35S, t-NOS y el gen endógeno *adh*1 en semillas de maíz (ICA, 2022), el cual se usa para procesos de certificación de semilla.

Para el paso de extracción de ADN en este método se puede utilizar el kit Marza Zymo, el Kit Qiagen DNeasy Plant Mini Kit y el Kit GeneSpin, en el paso de preparación de mezcla se debe preparar el master mix para PCR Multiplex o dúplex y la mezcla para la curva estándar. El Master mix está compuesto por Quantitec Probe PCR Kit, Primers 35 Fw y 35s Rv, Sonda 35s en FAM Primers Tnos Fw y Tnos Rv, Sonda Tnos en Hex, Primers Adh1 Fw y Adh1 Rv Sonda Adh1 en CY5, agua y ADN. Y los volúmenes de los reactivos varía si es multiplex o dúplex

Para la curva estándar se debe preparar 5 diluciones de la muestra control con las siguientes concentraciones 20 ng/uL, 6.67 ng/uL 2,22 ng/uL, 0.74 ng/uL y 0.25 ng/uL y cada dilución debe tener tres replicas.

El diseño de la placa debe ir distribuida como se indica en la figura 3.

Para la interpretación de resultados se tiene en cuenta los siguientes criterios:
La curva estándar debe tener los siguientes rangos: Eficiencia entre 90 y 110%, R^2 > 0,98 y una Pendiente entre -3.1 y -3.6. No se debe observar levantamiento de las curvas de blancos de extracción, controles negativos y NTC (agua). Para el caso de las muestras su relación masa/masa (g/kg) debe ser ≤1 según lo establecido en la resolución 3168 de 2015 del Instituto Colombiano Agropecuario. Todo esto se hace mediante el software "CFX Maestro" (ICA, 2022)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Dilucion 1- R1	Dilucion 1- R2	Dilucion 1- R3		M1 - R1	M1 - R2	M9 -R1	M9 - R2	M17 -R1	M17 - R2	M25 -R1	M25 - R2
B	Dilucion 2- R1	Dilucion 2- R2	Dilucion 2- R3		M2 -R1	M2 - R2	M10 -R1	M10 - R2	M18 -R1	M18 - R2	M26 -R1	M26 - R2
C	Dilucion 3- R1	Dilucion 3- R2	Dilucion 3- R3		M3 -R1	M3 - R2	M11 -R1	M11 - R2	M19 -R1	M19 - R2	M27 -R1	M27 - R2
D	Dilucion 4- R1	Dilucion 4- R2	Dilucion 4- R3		M4 -R1	M4 - R2	M12 -R1	M12 - R2	M20 -R1	M20 - R2	M28 -R1	M28 - R2
E	Dilucion 5- R1	Dilucion 5- R2	Dilucion 5- R3		M5 -R1	M5 - R2	M13 -R1	M13 - R2	M21 -R1	M21 - R2	M29 -R1	M29 - R2
F					M6 -R1	M6 - R2	M14 -R1	M14 - R2	M22 -R1	M22 - R2	M30 -R1	M30 - R2
G	Control Negativo	Blancos de extraccion	NTC (agua)		M7 -R1	M7 - R2	M15 -R1	M15 - R2	M23 -R1	M23 - R2	M31 -R1	M31 - R2
H					M8 -R1	M8 - R2	M16 -R1	M16 - R2	M24 -R1	M24 - R2	M32 -R1	M32 - R2

Figura 3. Diseño de placa para análisis cuantitativo. Esta placa está compuesta por cinco diluciones de una muestra control pozos A1 hasta E3; (cada muestra debe tener 3 réplicas), dos controles negativos pozos G1 y H1; dos blancos de extracción pozos G2 y H2; dos controles NTC pozos G3 Y H3 y las muestras pozos A5 hasta H12(cada muestra debe tener dos replicas)

Discusión

Según (CENAM, 2013) el análisis cualitativo de OGM se realiza para determinar la ausencia o presencia de una modificación genética en una muestra, donde se debe tener en cuenta la selección de protocolos y controles apropiados para las pruebas, los cuales deben estar dentro los parámetros establecidos. Además, la norma internacional ISO 21569 clasifica los métodos cualitativos para el análisis de ADN en OGM de la siguiente manera:

-Métodos taxón-específico para la detección de componentes derivados de la soya y el maíz
-Método de tamizaje o screening para la detección de ADN modificado en plantas (Promotor CaMV p35S) y (*Agrobacterium tumefaciens* terminador – Tnos)
-Métodos constructo-específico para la detección de las secuencias de ADN modificas de soya GTS 40-3-2 y maíz Bt11 y T25.
-Método evento-específico para la detección de las secuencias de ADN modificadas del maíz MON 810.

Y para el análisis cuantitativo se realiza la cuantificación de la cantidad del evento o elemento presente en la muestra y para ello se emplean métodos Físicos, Fisicoquímicos, Enzimáticos y PCR cuantitativo (PCR en tiempo real o PCR digital).

Según lo establecido en la norma ISO 21569:2005 “Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Qualitative nucleic acid based methods” se describe métodos específicos para cada taxón derivados de soya, tomate y maíz. Métodos de Screening para la detección del promotor CaMV 35S, terminador T-nos. Métodos específicos de constructo para soya GTS 40-3-3, maíz Bt 11, maíz Bt 176 y T25. y método específico de evento para maíz MON 810 (ISO, 2005b).

Y en la norma ISO 21570:2005 “Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Quantitative nucleic acid based methods” describe el método específico para cada taxón del gen adh1 del maíz. Método de Screening para el promotor 35S de la soya GTS 40-3-2. Métodos específicos de constructo para soya GTS 40-3-2, maíz Bt11, 176, MON 810, GA21 y T25. Y métodos específicos de eventos para maíz Bt11 y MON 810 (ISO, 2005c).

Además, en el “Compendio de Métodos de Referencia para el análisis de OGM” del Centro Común de Investigación (JRC) de la Comisión Europea, describe que métodos han sido validados en un ensayo colaborativo de acuerdo con los principios y requisitos de la norma ISO 5725 y/o el protocolo IUPAC. En dicho documento se mencionan para cada método: información general, datos de validación, secuencias de cebadores y sondas, configuración de la reacción de PCR, condiciones de amplificación y referencias. Para el método cuantitativo mencionan procedimientos de PCR para maíz de eventos Bt11, GA21, MIR604, MON 810, MON 89034, NK 603, TC1507. Para soya los eventos GTS 40-3-2 y MON 89788 y para algodón GHB 614, Llcotton25, MON 531, MON 1445, MON 15985 y MON 88913. Y PCR para elemento y taxón-especifico del promotor 35S, el gen *bar* y el gen *Cry1Ab.* Y en el método cualitativo encontramos procedimientos de PCR para elementos específicos como el promotor 35S, el terminador Tnos y el gen *bar.* Para constructo-específico en maíz

para los eventos Bt11 y T25, y en soya GTS 40-3-2. En Evento-específico para maíz MON 810 (Van Den Eede G., 2011). Y también cuentan con una base de datos que sirve como herramienta a los laboratorios de control, ya que encuentran datos sobre protocolos experimentales, información sobre el rendimiento de los métodos, materiales de referencia y enlaces sobre artículos o informes de validación.

Según (Mazo Castaño y Rodríguez Susa, 2021) para el año 2017 se habían solicitado la autorización de 134 cultivos GM en Colombia, de los cuales 104 han sido aprobados y 28 están a la espera de aprobación por parte del Ministerio de Salud y Protección Social, el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) o el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Además, mencionan que en el país se siembran algunos Cultivos GM de algodón, trigo, soya, sorgo, maíz, arroz, canola, papa, tomate, remolacha azucarera y flor azul.

Según lo reportado con la base de datos del Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones de Agrobiotecnología - ISAAA (ISAAA, 2023) en Colombia hay 125 eventos aprobados para cultivos transgénicos de la siguiente manera: 8 eventos de Clavel, 22 eventos de algodón, 1 evento en Lino (tabla 3), 63 eventos en maíz (tabla 4), 2 eventos en arroz, 2 eventos en rosa, 24 eventos en soya, 1 evento en remolacha azucarera y 2 eventos en trigo (tabla 5).

Tabla 3. Eventos aprobados en Colombia para el cultivo de clavel, algodón, lino.

Cultivo	Evento	Rasgo GM
Clavel (*Dianthus caryophyllus*),	12226A 1351A 1400A 19907 25947 25958 26407 959A	Tolerancia a herbicidas sulfonilurea, color de flor modificado
Algodón (*Gossypium hirsutum L.*),	281-24-236 3006-210-23 GHB119 T304-40 T304-40 x GHB119 x COT102	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a insectos lepidópteros
	3006-210-23 x 281-24-236 x MON88913 x COT102 x DAS81910 81910	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos, tolerancia al herbicida 2,4-D
	COT102 MON531	Resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
	COT102 x MON15985 x Mon88913 x MON88701	Tolerancia al herbicida glufosinato , tolerancia al herbicida glifosato , resistencia a los insectos lepidópteros , resistencia a los antibióticos , marcador visual , tolerancia al herbicida dicamba

	GHB614 MON88913	Tolerancia al herbicida glifosato
	GHB614 x LLCotton25	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato
	GHB614 x T304-40 x GHB119	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros
	GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
	LLCotton25	Tolerancia al herbicida glufosinato
	MON1445	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los antibióticos
	MON15985	Resistencia a insectos lepidópteros, resistencia a antibióticos, marcador visual
	MON531 x MON1445	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
	MON88701	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida dicamba
	MON88701 x MON88913	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida dicamba
	MON88913 x MON15985	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos lepidópteros, resistencia a antibióticos, marcador visual
Lino *(Linum usitatissimum L.)*	FP967	Tolerancia a herbicidas sulfonilurea, resistencia a antibióticos, síntesis de nopalina

Tabla 4. Eventos aprobados en Colombia para el cultivo de maíz.

Cultivo	Evento	Rasgo GM
Maíz (*Zea mays L.*)	3272	Alfa amilasa modificada, metabolismo de manosa

	3272 x Bt11 x MIR604 x GA21	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos coleópteros, resistencia a insectos lepidópteros, alfa amilasa modificada, metabolismo de manosa
	3272 x Bt11 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a múltiples insectos, alfa amilasa modificada, metabolismo de manosa
	4114	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros
	5307	Resistencia a múltiples insectos, metabolismo de la manosa
	5307 x MIR604 x Bt11 x TC1507 x GA21 5307 x MIR604 x Bt11 x TC1507 x GA21 x MIR162	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos coleópteros, resistencia a insectos lepidópteros, resistencia a insectos múltiples, metabolismo de manosa
	59122	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a insectos coleópteros
	59122 x NK603	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros
	Bt11 Bt11 x GA21 TC1507 TC1507 x MON810	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a insectos lepidópteros
	Bt11 x 59122 x MIR604 x TC1507 x GA21 Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 Bt11 x MIR604 x GA21 TC1507 x 59122 x MON810 x MIR604 x NK603	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa
	Bt11 x MIR162	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa

Bt11 x MIR162 x GA21 Bt11 x MIR162 x TC1507 x GA21 MON89034 x TC1507 x NK603 x MIR162 TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa
Bt11 x MIR604	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa
DAS40278	Tolerancia al herbicida 2,4-D
DAS40278 x NK603	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida 2,4-D
GA21 MON87427 NK603	Tolerancia al herbicida glifosato
LY038	Aminoácido modificado
MIR162	Resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa
MIR604	Resistencia a los insectos coleópteros, metabolismo de la manosa
MIR604 x GA21	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, metabolismo de la manosa
MON810	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
MON810 x MON88017 MON89034 x MON88017	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros
MON863	Resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los antibióticos
MON863 x MON810 x NK603	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
MON87411 MON88017	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos coleópteros
MON87419	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida dicamba
MON87427 x MON87419 x NK603	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida dicamba

MON87427 x MON89034 x MIR162 x NK603	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, metabolismo de la manosa
MON87427 x MON89034 x TC1507 x MON87411 x 59122 x DAS40278	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, tolerancia al herbicida 2,4-D
MON87460	Tolerancia al estrés por sequía , resistencia a los antibióticos
MON87460 x MON89034 x MON88017	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, tolerancia al estrés por sequía, resistencia a los antibióticos
MON87460 x MON89034 x NK603	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, tolerancia al estrés por sequía, resistencia a los antibióticos
MON87460 x NK603	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al estrés por sequía, resistencia a los antibióticos
MON89034	Resistencia a los insectos lepidópteros
MON89034 x NK603 NK603 x MON810	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos lepidópteros
MON89034 x TC1507 x MON88017 x 59122 TC1507 x 59122 x NK603 TC1507 x MON810 x NK603 x MIR604	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros
MON89034 x TC1507 x NK603 TC1507 x MON810 x NK603 TC1507 x NK603	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros
MZIR098	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a insectos coleópteros, resistencia a múltiples insectos
NK603 x MON810 x 4114 x MIR604	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos coleópteros, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos, metabolismo de la manosa

	NK603 x T25	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los antibióticos
	NK603 x T25 x DAS40278	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los antibióticos, tolerancia al herbicida 2,4-D
	T25	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a los antibióticos
	T25 x MON810	Tolerancia al herbicida glufosinato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos
	TC1507 x MON810 x MIR162	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, resistencia a los antibióticos, metabolismo de la manosa

Tabla 5. Eventos aprobados en Colombia para el cultivo de arroz, rosa, soya, remolacha azucarera y trigo.

Cultivo	Evento	Rasgo GM
Arroz (*Oryza sativa* L.)	LLRICE601 LLRICE62	Tolerancia al herbicida glufosinato
Rosa (*Rosa hybrida*),	WKS82/130-4-1 WKS92/130-9-1	Color de flor modificado
Soya (*Glycine max* L.)	A2704-12 A5547-127	Tolerancia al herbicida glufosinato
	CV127	Tolerancia a herbicidas sulfonilureas
	DAS44406-6	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida 2,4-D
	DAS68416-4	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida 2,4-D
	DAS81419 x DAS44406	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, tolerancia al herbicida 2,4-D
	DP305423	Tolerancia a herbicidas de sulfonilurea, aceite modificado/ácido graso

	DP305423 x GTS 40-3-2	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida sulfonilurea, aceite modificado/ácido graso
	DP356043	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida sulfonilurea
	FG72	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida isoxaflutol
	FG72 x A5547-127	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida isoxaflutol
	GMB151	Resistencia a los nematodos, tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD
	GTS 40-3-2 MON89788	Tolerancia al herbicida glifosato
	MON87701 MON87751	Resistencia a los insectos lepidópteros
	MON87701 x MON89788	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a insectos lepidópteros
	MON87705 MON87769	Tolerancia al herbicida glifosato, aceite modificado/ácido graso
	MON87708 MON87708 x MON89788	Tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida dicamba
	MON87708 x MON89788 x A5547-127	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida glifosato, tolerancia al herbicida dicamba
	MON87751 x MON87701 x MON87708 x MON89788	Tolerancia al herbicida glifosato, resistencia a los insectos lepidópteros, tolerancia al herbicida dicamba
	SYHT0H2	Tolerancia al herbicida glufosinato, tolerancia al herbicida mesotriona
Remolacha azucarera (*Beta vulgaris*)	H7-1	Tolerancia al herbicida glifosato
Trigo (*Triticum aestivum*).	Trigo HB4	Tolerancia al estrés por sequia
	MON71800	Tolerancia al herbicida glifosato

En Colombia los cultivos GM autorizados se caracterizan por ser resistentes a insectos del orden Coleóptera (maíz MIR604) y Lepidóptera (maíz MON89034, algodón MON15985 y soya MON87701) y tolerancia a herbicidas como el glifosato (maíz NK603, algodón MON1445, soya GTS 40-3-2) y el glufosinato (maíz Bt11 y algodón LLCotton 25) los cuales son desarrollados por Monsanto Company o Syngenta (Leguizamón *et al*, 2018, ISAAA,2023). Y según la Resolución 3168 de 2015

del Instituto Colombiano Agropecuario, “la cual reglamenta y controla la producción, importación y exportación de semillas producto del mejoramiento genético para la comercialización y siembra en el país, así como el registro de las unidades de evaluación agronómica y/o unidades de investigación en fitomejoramiento”; se define que dentro de las condiciones finales para la certificación de la semilla (como básica, registrada o certificada) no deben superar los límites de concentración de contenido de OGM entre 0.5 - 1%/kg para maíz, 0 - 1.5 %/kg para algodón y 0 - 2%/kg para soya (ICA, 2015)

Y según lo reportado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) actualmente se realiza la detección de 19 eventos (ver tabla 1) para tres matrices, los cuales son los siguientes: 2 eventos de soya, 9 eventos de maíz y 8 eventos en algodón (ICA, 2023). Y son empleados para siembra, consumo directo o como materia prima para la producción de alimentos para animales domésticos (Grupo Semillas, 2019).

Conclusiones

-Se puede concluir que el método cualitativo se emplea para determinar la presencia o ausencia de un evento, elemento, gen o proteína en maíz, algodón y soya ya que esto sirve para los procesos de vigilancia y control por parte de la Dirección Técnica de Semillas. Y el método cuantitativo se emplea para determinar la cantidad de los elementos 35S, t-NOS y el gen endógeno *adh*1 en semillas de maíz siendo necesario para la certificación de semillas según lo establecido en la resolución ICA 3168 de 2015.

-De manera general se puede decir que una de las diferencias entre los dos métodos es la distribución del diseño de la placa, ya que para el método cuantitativo se debe disponer de 21 pozos para los controles (15 de curva estándar, 2 controles negativos, 2 blancos de extracción y 2 NTC) y para el método cualitativo de 9 pozos (3 NTC, 3 controles positivos y 3 controles negativos). Y para la interpretación de resultados se basan en la norma ISO 24276:2006 para la detección cualitativa y en el cuantitativo según los criterios de aceptación del método.

-El método cuantitativo por PCR en tiempo real requiere de mayor precisión y tiempo de análisis, ya que es un método más sensible debido a su cuantificación respecto al método cualitativo.

Referencias

-Asociación de Biotecnología Vegetal Agrícola - Agro-Bio. (2022). Cultivos transgénicos aumentan un 31% en 2021. https://agrobio.org/noticias/transgenicos-en-colombia-2021

-Bowen, B.A., Bruce, W.B., Lu, G., Sims, L.E. & Tagliani, L.A. (2008). Patente: Promotores sintéticos. https://patentimages.storage.googleapis.com/b7/6c/55/8f9eb9ceb2288c/ES2292234T3.pdf

-Centro Nacional de Metrología - CENAM. (2013). Manual de Protocolos de Medición de Organismos Genéticamente Modificados. Centro Nacional de Metrología. México. https://conacyt.mx/cibiogem/images/cibiogem/redes/Red-Laboratorios/Docs/requerimientos-ingreso/MANUAL_DE_PROTOCOLOS_DE_MEDICION_DE_OGMs.pdf

-Díaz-Granados, C. y Chaparro-Giraldo, A. (2012). Métodos de transformación genética de plantas. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000100007

-Espinosa-Asuar, L. (2007). Guía práctica sobre la técnica de PCR. https://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/PCR%20guia.pdf

-Folch i Montori, I. (2007). Mecanismos de detección de organismos genéticamente modificados. https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/185-enero-2007/mecanismos-de-deteccion-de-organismos-geneticamente-modificados

-Grupo Semillas (2019). Cultivos transgénicos en Colombia. Impactos ambientales y socioeconómicos. Acciones sociales en defensa de las semillas criollas y la soberanía alimentaria. Informe País, 2018. https://www.semillas.org.co/apc-aa-files/5d99b14191c59782eab3da99d8f95126/informe-pais-ogm-2018_web.pdf

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (s.f.). Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) https://www.ica.gov.co/areas/subgerencia-analisis-y-diagnostico/laboratorio-de-organismos-geneticamente-modificado

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2015). Resolución 3168 de 2015. https://www.ica.gov.co/getattachment/4e8c3698-8fcb-4e42-80e7-a6c7acde9bf8/2015R3168.aspx

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2018). METODO ANALITICO: PCR en tiempo real para la detección cualitativa de Organismos Genéticamente Modificados en semillas de algodón, maíz, soya y arroz. V.1

-Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (2022). MÉTODO ANALÍTICO; Cuantificación (m/m), de los elementos transgénicos 35s, Tnos y gen endógeno adh1 en semillas de maíz por PCR en tiempo real. V.2

-Instituto Colombiano Agropecuario – ICA (2022). Instructivo: Análisis de muestras en el Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados. V.1

-Instituto Colombiano Agropecuario – ICA (2023). Laboratorio de Detección de Organismos Genéticamente Modificados (OGM). Portafolio de servicios. https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/Subgerencia-Analisis-y-Diagnostico/Laboratorio-de-Organismos-Geneticamente-Modificado/PORTAFOLIO-SERVICIOS-DEL-LOGM-2023-1.pdf.aspx?lang=es-CO

-International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications - ISAAA. (2023). Aprueban eventos de cultivos transgénicos en Colombia. Base de datos de

aprobación de GM. Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones de Agrobiotecnología – ISAAA. https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/approvedeventsin/default.asp?CountryID=CO&Country=Colombia
-International Organoization for Standardization - ISO (2005a). 21571:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Nucleic acid extraction. Geneva, Switzerland.
-International Organoization for Standardization - ISO (2005b). 21569:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Qualitative nucleic acid based methods. Geneva, Switzerland.
-International Organoization for Standardization - ISO (2005c). 21570:2005 Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Quantitative nucleic acid based methods. Geneva, Switzerland.
-GAHCIM. (2019). Informe GAHCIM Trigo HB4-PAT. Grupo ad-hic sobre e identificación molecular. https://www.gub.uy/sites/gubuy/files/documentos/publicaciones/anexo_2_informe_gahcim_trigo_hb4-pat_0.pdf
-Leguizamón-Guerrero, J.E., Vela-Rojas, A.F., Arias-Cortés, M.M., & Cifuentes-Fernández, L.F. (2018). Panorama general de los organismos genéticamente modificados en Colombia y en el mundo: Capacidad nacional de detección. Revista Colombiana de Biotecnología. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752018000200101#f3
-Martínez, M., Cabrera, J.L., & Herrera, L. (2004). Las plantas transgénicas: una visión integral. https://www.redalyc.org/pdf/730/73000202.pdf
-Mazo-Castaño, C y Rodríguez-Susa, M. (2021). Modelo de dispersión de polen de maíz transgénico en el municipio de Tierralta (Córdoba, Colombia). https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/1637/1127#citations
-Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca - MAGyP (2012). Segunda Fase de Evaluación. DD TC1507XMON810XNK603 Y TC1507XMON810. https://magyp.gob.ar/sitio/areas/biotecnologia/conabia/_pdf_dd/DOC_DEC_%20TC1507XMON810XNK603%20Y%20TC1507XMON810.pdf
-Oviedo-Bolaños, K., García-González, J., Solano-González, S., Martínez-Debat, C., Sancho-Blanco, C. & Umaña-Castro, R. (2020). Detección del promotor 35S mediante PCR tiempo-real: indicador de transgenicidad en alimentos y *Gossypium* sp. https://www.redalyc.org/journal/437/43761812016/html/
-Serrato-Díaz, A., Flores-Rentería, L., Aportela-Cortez, J. & Sierra-Palacios, E. (2008). PCR: reacción en cadena de la polimerasa. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, 53. https://www.researchgate.net/profile/Jorge-Ramirez-Salcedo/publication/296695965_Microarreglos_de_DNA_Fabricacion_Proceso_y_Analisis/links/56d88bc408aee73df6ccfd74/Microarreglos-de-DNA-Fabricacion-Proceso-y-Analisis.pdf#page=69
-Servicio Agrícola y Ganadero – SAG. (s.f.). Métodos disponibles para detección de OGM´S. Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile https://www.sag.cl/ambitos-de-accion/metodos-disponibles-para-deteccion-de-ogms
-Sociedad Española de Biotecnología – SEBIOT (2007). Plantas Transgénicas [preguntas y Respuestas]. https://sebiot.org/userfiles/files/Plantas_transgenicas.pdf

-Trejo-Saavedra, D.L., Rodríguez-Negrete, E.A., & Rivera-Bustamante, R.F. (2015). Detección de transgenes en Organismos Genéticamente Modificados (OGM) y sus subproductos. Acta Universitaria.
https://www.redalyc.org/pdf/416/41648311003.pdf
-Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM. (s.f.). PCR en tiempo real. Facultad de Química.
https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii/pcr-en-tiempo-real/#:~:text=La%20prueba%20se%20basa%20en,y%20amplificado%20billones%20de%20veces.
-Van Den Eede G. (2011). Compendium of reference methods for GMO analysis. EUR 24526 EN. Luxembourg (Luxembourg): Publications Office of the European Union, JRC64876. https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC64876
-Verdugo-Fuentes, A.A., Castro-Espinoza, L., Gutiérrez-Coronado, M.A. & Martínez-Carrillo, J.L. (2019). Metodologías para el análisis de expresión y cuantificación de proteínas conferidas en tejidos de cultivos GM. Revista mexicana de ciencias agrícolas.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342019000400815
-Villalba, A. (2009). Resistencia a herbicidas. Glifosato. https://www.redalyc.org/pdf/145/14512426010.pdf