

INFORME TÉCNICO

Relevamiento de la presencia de transgenes en maíces de productores de la Red de Semillas Criollas.

Red Nacional de Semillas Nativas y Criollas
REDES-AT

Resumen

En Uruguay está autorizado el cultivo de varios eventos transgénicos en maíz. La reglamentación vigente en el país establece que la política a seguir en relación a la bioseguridad de los cultivos genéticamente modificados (GM) es la 'coexistencia regulada' con otras modalidades productivas. Uruguay cuenta con una diversidad genética local relevante en maíz generada a partir de la introducción y posterior multiplicación de las semillas que han realizado los productores durante décadas. Una colecta de variedades criollas de maíz realizada a nivel nacional en 1978 reveló una gran diversidad de razas y características agronómicas. La disminución en el número de productores familiares y cambios en las modalidades productivas han reducido la cantidad de variedades conservadas, y afectado la diversidad del germoplasma nacional. La Red Nacional de Semillas Nativas y Criollas es una articulación de productores familiares junto a la Facultad de Agronomía y la ONG REDES-AT. Esta Red se propone rescatar y revalorizar el uso de semillas criollas. La presencia de transgenes en las poblaciones de semillas de maíz criollo afecta su identidad no-GM y pone en riesgo su conservación por parte de los productores. En este trabajo se muestrearon semillas de maíz utilizadas por productores de la Red de Semillas y fueron analizadas para la detección de proteínas transgénicas por el método de DAS-ELISA. Del análisis de 18 muestras de semillas se detectó presencia de transgenes en tres casos. Este dato se suma a la detección de transgenes en cuatro muestras de maíz de productores de la Red en el año 2013. Estos resultados muestran que en Uruguay se están dando eventos de contaminación de maíces no-GM con transgenes ya sea esta producto de la interpolinización entre cultivos, de mezclas en las cadenas de producción o de la falta de trazabilidad en cuanto a su carácter GM del germoplasma de maíz que circula por nuestro territorio. Esto es particularmente preocupante en el caso de variedades criollas ya que pone en riesgo su conservación *in situ*. La falta de certezas en cuanto a la identidad GM o no-GM de las semillas de maíz que utilizan los productores interesados en producir maíz no-GM trae aparejados además problemas de carácter comercial en algunos casos y pone en tela de juicio la viabilidad de la 'coexistencia regulada'.

Introducción

En Uruguay está autorizado el cultivo de diez eventos transgénicos en maíz. Los primeros eventos en aprobarse fueron el MON810 y el Bt11, en los años 2003 y 2004 respectivamente. En conjunto los eventos autorizados portan transgenes que codifican para distintas proteínas de *Bacillus thuringiensis* tóxicas para larvas de lepidópteros y proteínas que les confieren tolerancia a los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio (MGAP-GNBio, 2014). El Decreto Presidencial 353/008 del 21 de julio de 2008 es el que regula los aspectos vinculados a la bioseguridad de vegetales genéticamente modificados (GM) (MGAP-GNBio, 2009). Este decreto establece como política de Estado la “*coexistencia regulada*” entre vegetales GM y no-GM, deroga decretos anteriores y genera una nueva estructura institucional en materia de bioseguridad, en la cual la instancia de toma de decisiones es el Gabinete Nacional de Bioseguridad (GNBio). La estructura Institucional encargada del proceso de evaluación y gestión de riesgos se compone de las siguientes instancias: Gabinete Nacional de Bioseguridad (GNBio); Comisión para la Gestión del Riesgo (CGR); Evaluación del Riesgo en Bioseguridad (ERB) y Comité de Articulación Interinstitucional (CAI). Esta nueva estructura comenzó a funcionar en 2009 y desde entonces el GNBio ha tomado resoluciones que eliminan las medidas relacionadas con la coexistencia, adoptadas por la anterior estructura institucional¹.

En nuestro país existe una gran diversidad de variedades locales de maíz (De María et al. 1979, Gutiérrez et al. 2003). Estas se originaron a partir de la introducción realizada por diversas corrientes inmigratorias, y la subsecuente multiplicación, conservación y selección que han realizado los productores en los predios durante décadas (Berreta et al. 2007). Este germoplasma tiene un valor intrínseco y un valor de uso. El primero, se refiere al valor como un elemento cultural e identitario de los agricultores. El segundo, es el valor como fuente de variabilidad para el mejoramiento convencional por su adaptación a las condiciones agroecológicas locales, y características agronómicas favorables. En 1978 se realizó en el país una colecta de maíces criollos que reveló una gran diversidad de razas y características agronómicas. Esta colecta dio lugar a una colección *ex situ* de 852 accesiones que ha sido caracterizada y clasificada en base a características fenotípicas en 10 grupos raciales (De María et al. 1979). El cultivar “Blanco Cangué” desarrollado por la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República fue seleccionado a partir de germoplasma local. Este cultivar ha tenido buena aceptación entre los productores por su adecuación a sistemas lecheros y de ganadería intensiva en la región sur (Vidal et al. 2009).

El problema de la erosión de los recursos genéticos vegetales ha sido ampliamente documentado (Harlan 1972, Brown 1975, Van de Wouw et al. 2010). Las variedades locales sufren un proceso de desaparición, consecuencia de la sustitución por cultivares modernos y

¹ Las resoluciones del GNBio 32A y 32B del año 2011 dejan sin efecto las resoluciones del Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente, 276/2003 y 292/2004 que establecían una distancia de 250 metros entre cultivos de maíz GM y no-GM para los eventos MON810 y BT11 respectivamente. La resolución del GNBio Nº 42 del año 2012 dejó sin efecto la resolución ministerial conjunta del MVOTMA y el MGAP del 17 de agosto de 2006 que prohibía la producción de maíz dulce GM. La resolución del 2006 se había tomado en el entendido de que en los sistemas hortícolas es muy difícil establecer medidas de coexistencia que eviten flujo de transgenes hacia maíces no-GM; con esta resolución del GNBio ya no existe ninguna medida que apunte a la promoción de la coexistencia.

la disminución del número de productores familiares que históricamente han utilizado los recursos fitogenéticos locales. Esta erosión genética motivó que en las últimas décadas se realizaran acciones de colecta, conservación *ex situ*, y utilización de los recursos genéticos locales en diversas especies (Galván et al. 2005). No obstante, el estado de conservación y documentación en colecciones *ex situ* es incompleta o insuficiente, y se desconoce el nivel de representatividad de estas colecciones (Berretta et al. 2007). La Convención de la Diversidad Biológica de 1992 (CDB) reconoce que es crucial la conservación *in situ-on farm* (Maxted et al. 1997). Una de las formas más eficientes de apoyar la conservación *in situ* que realizan los productores en sus predios, es promover el uso del germoplasma que estos conservan (Clement et al. 2007).

La Red Nacional de Semillas Nativas y Criollas promueve la conservación *in situ* de germoplasma local en manos de productores familiares. Está conformada por 160 emprendimientos familiares que involucran a más de 250 productores y productoras distribuidos en todo el país, organizados en 25 grupos territoriales. Surge como resultado del Programa Rescate y Revalorización de Semillas Criollas y Soberanía Alimentaria que en el año 2004 comenzaron a llevar adelante la Asociación de Productores Orgánicos del Uruguay (APODU) y la ONG REDES-AT, con la participación de la Facultad de Agronomía a través del Centro Regional Sur. En el año 2006 esta iniciativa es declarada de Interés Ministerial por parte del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). El rescate, revalorización y mantenimiento de los recursos fitogenéticos y la necesidad de contar con semillas criollas de calidad son la principal motivación de esta Red. En el año 2013 esta Red organizó la 5ta Fiesta Nacional de la Semilla Criolla, evento que convoca a más de mil personas, entre ellas a las autoridades de gobierno vinculadas con la temática. Además de promover el uso e intercambio de semillas criollas, esta Red desarrolla proyectos educativos y de promoción cultural en torno al tema.

A partir de la liberación de cultivos transgénicos en Uruguay, la posibilidad de contaminación de variedades criollas con cultivares transgénicos, ya sea esta producto de cruzamientos no deseados o de mezclas involuntarias en la cadena de producción-almacenamiento-distribución, plantea un nuevo desafío para su conservación. La presencia de transgenes en estas semillas afecta la identidad no-GM del cultivo y desestimula su conservación por parte de los productores. Cabe señalar que muchos de los productores de la Red de Semillas producen semillas orgánicas por lo cual la presencia de transgenes en las mismas trae además aparejados problemas comerciales. En el caso del maíz los riesgos de contaminación son altos, dada la biología del cultivo y el manejo cultural que hacen los productores con sus semillas.

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta monoica que tiene al viento como principal vector de dispersión del polen. Esto hace que exista un alto grado de polinización cruzada entre plantas y entre cultivos cercanos. Varios estudios han demostrado flujo de polen desde variedades de élite hacia variedades locales, entre variedades y entre híbridos (Burris, 2001; Doebley, 1990; Sanou *et al.*, 1997). Se han realizado varios trabajos que miden el flujo de genes por interpolinización entre cultivos, algunos de los cuales han sido recopilados por Devos *et al.* (2005) y Sanvido *et al.* (2008). Muchos de estos trabajos han tenido como objeto aportar información que ayude a definir las distancias de aislamiento necesarias, para que la presencia de transgenes en los cultivos no-GM, se mantenga por debajo de

determinados niveles según las exigencias de algunos mercados, particularmente el de la Unión Europea (UE). Los distintos enfoques en la investigación, métodos analíticos y diseños experimentales utilizados, dificulta la comparación de resultados, lo cual complica la definición de medidas apropiadas que limiten en el campo la polinización cruzada (Devos *et al.* 2005). Un estudio realizado en 2008 por investigadores de las Facultades de Agronomía, Química y Ciencias de la Universidad de la República en convenio con REDES-AT mostró que en Uruguay existe flujo de transgenes desde cultivos de maíz GM a cultivos no-GM aún en situaciones en las que se respetaron las distancias establecidas por la reglamentación de aquel momento (250 metros) (Galeano *et al.* 2010).

En la zafra 2013/2014 se sembraron 131.000 ha de maíz en Uruguay estimándose para la zafra actual un área de siembra algo superior a las 100.000 ha (MGAP-DIEA, 2014). No existen datos oficiales en relación a que porcentaje del maíz cultivado es transgénico. El Instituto Nacional de Semillas (INASE, 2014) estima que sólo un 0,1 % de la semilla utilizada es producida por los propios productores y que de la semilla comercial el 91% es importada y el resto es nacional. Al año 2010, que es el último dato disponible, aproximadamente el 90% del volumen de semilla importada para maíz era transgénica. Estos datos indican que la mayor parte del maíz que se siembra en Uruguay para producir grano seco es transgénico. Sólo algunos productores familiares continúan sembrando maíz no transgénico y son estos los que aún manejan semillas criollas. Según datos de la Dirección de Estadísticas Agropecuarias (DIEA), en la zafra 2012/2013 los productores que sembraron maíz fueron 2.835, 80% de los cuales (2.276 productores) sembraron menos de 20 ha abarcando un 3% del área del cultivo, mientras que los que sembraron áreas mayores fueron 559 y abarcaron el 97% del área (MGAP-DIEA, 2013). Sin embargo, según la DIEA, en la zafra 2013/2014 solo 841 productores sembraron maíz, siendo 192 (23% del total) los que cultivaron menos de 20 ha abarcando un 0,3% del área mientras que los productores que siembran superficies mayores fueron 649 y abarcaron 99,7% del área de cultivo (MGAP-DIEA, 2014). La drástica disminución en la estimación del número de productores que plantan maíz a menor escala se explica fundamentalmente porque la DIEA ajustó su marco de muestreo y estimaciones a los resultados del Censo General Agropecuario de 2011 que mostró una drástica reducción de predios de menos de 20 ha con respecto al anterior Censo del año 2000. De todas formas estos datos muestran que coexisten dos tipos de productores de maíz: - los productores vinculados a una agricultura de mayor escala que plantan fundamentalmente maíz GM; - los agricultores familiares de pequeña escala que cultivan fundamentalmente para autoconsumo y son los que aún utilizan variedades no-GM, algunas de ellas criollas. Esto es relevante dado que los riesgos de contaminación de los maíces no-GM con transgenes son altos ya que las áreas de cultivo de maíz GM son mucho mayores que las de maíz no-GM y en los centros de acopio y venta de semillas y granos predominan los maíces GM sin que se cuente con un sistema de etiquetado adecuado en el caso de los granos.

Desde el año 2013 se viene realizando un relevamiento de la presencia de transgenes en semillas de maíz utilizadas por productores de la Red de Semillas Nativas y Criollas. Esto ha sido posible debido a un convenio entre REDES-AT y la Fundación para el progreso de la Química (FUNDAQUIM) que funciona en la órbita de la Facultad de Química de la UdelaR. El Laboratorio de Bioquímica de esta facultad es donde se realiza el análisis de la presencia de proteínas transgénicas en las muestras de semillas enviadas por los técnicos de la Red de Semillas. En el año 2013 se detectó la presencia de proteínas transgénicas en cuatro

muestras de semillas de productores de los departamentos de Treinta y Tres y Canelones. La Red de Semillas Criollas envió una nota a las autoridades competentes con un listado de 56 productores solicitando se tomen las medidas necesarias para salvaguardar el derecho de estos productores a producir maíz no-GM. En el presente informe se presentan los resultados del análisis de las muestras de semillas enviadas por productores de la Red de Semillas en el año 2014.

Materiales y Métodos

Obtención de muestras

Durante el segundo semestre del año 2014 los técnicos de la Red de Semillas colectaron muestras de semillas de maíz de productores interesados en confirmar la identidad no-GM de las mismas. Se enviaron para su análisis 18 muestras de al menos 150 gramos de semillas. Las semillas procedieron de los departamentos de Canelones, Colonia, Maldonado, Montevideo, Salto y Treinta y Tres. En la figura 1 se observan algunas de las semillas analizadas.

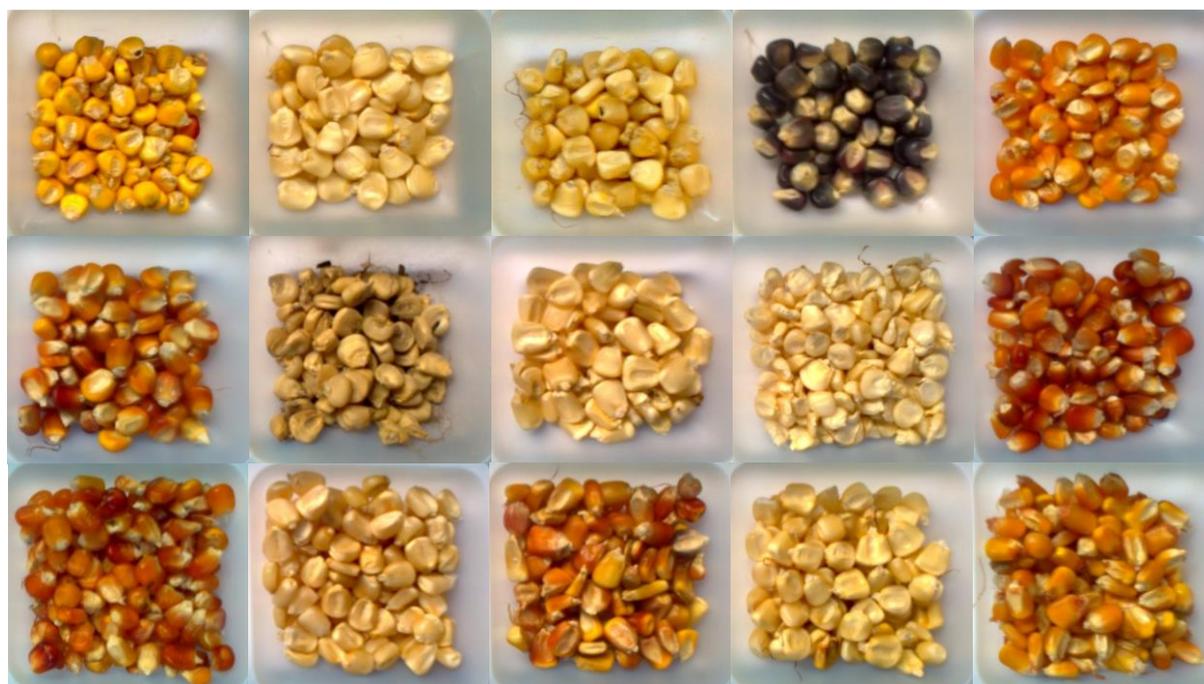


Figura 1. Imagen de algunas de las muestras de semillas analizadas en este estudio.

Detección de proteínas transgénicas

Para cada muestra se analizó la presencia de las proteínas Cry1Ab, Cry1F y CP4 EPSP de forma de cubrir todos los eventos transgénicos en maíz aprobados en Uruguay. Se analizaron 300 granos de cada muestra subdivididos en seis grupos de 50 granos debido a la sensibilidad del método utilizado para la detección.

Las determinaciones se realizaron por el método de DAS-ELISA. Se utilizaron PathoScreen kits for Bt-Cry1Ab/1Ac protein (PSP 06200), Bt-Cry1F protein (PSP 10301) y CP4 EPSP protein (PSP 74000), todos de la empresa Agdia Inc (Indiana, USA), procediéndose según las instrucciones del fabricante. Los extractos acuosos de proteínas solubles fueron preparados

en buffer PBS-T pH 7.4 a partir de 50 granos molidos. Se agregó 100 µL de cada extracto por pocillo cubierto del anticuerpo específico para Cry1Ab/1Ac, Bt-Cry1F o CP4 EPSP según el kit utilizado en las placas de DAS-ELISA, junto con 100 µL del conjugado enzimático y la mezcla se incubó durante dos horas a temperatura ambiente. Luego de la incubación, se hicieron lavados de las placas, se agregó TMB como sustrato y la presencia de la proteína se detectó por cambio de coloración en la solución utilizando un equipo lector de placas de ELISA. Todos los ensayos se hicieron por duplicado y se utilizaron controles positivos de los kits y controles negativos comerciales (Agdia Inc, Indiana, USA).

Análisis de datos

Para cada muestra de semillas se analizó como mínimo 300 granos. Dada la sensibilidad del método el análisis se hizo utilizando seis sub-muestras compuestas de 50 granos de forma de poder detectar al menos un grano GM en el total de la muestra si éste estuviera presente.

Se define Pd como la probabilidad de detectar al menos un individuo positivo en una población de n individuos, según la fórmula:

$$Pd = 1 - (1 - p)^S$$

donde S es el número de individuos analizados (n) por muestra, asumiendo que los individuos positivos están distribuidos con una frecuencia uniforme p (Piñeyro-Nelson *et al.* 2009). Para una muestra de n individuos, hay una Pd del 95% para una $p=1-^n\sqrt{0.05}$. En los casos en que no se detectó ningún positivo, se puede afirmar con un 95% de confianza que la frecuencia con la que se encuentran individuos que expresan la proteína transgénica es $p < 1-^n\sqrt{0.05}$.

Se analizaron 300 individuos por muestra de forma tal que de no detectarse ninguno que expresase proteínas transgénicas pueda afirmarse con un 95% de confianza que para ese lote de semillas muestreadas la frecuencia (p) con que se encuentran individuos GM es menor al 1% ($<1/100$).

Para los casos en que alguna de las seis sub-muestra de 50 granos dio positiva el método y el tipo de muestra utilizado (granos) no permite determinar cuántos de los individuos en la sub-muestra son GM. Se asume entonces que al menos un individuo en la sub-muestra es positivo por lo que la frecuencia con que se encuentran individuos GM en ese lote de semillas es

$$p \geq \text{n}^\circ \text{ de sub-muestras positivas}/300$$

Resultados y Discusión

En tres de las 18 muestras analizadas se encontraron semillas que expresaban la proteína Cry1Ab. Ninguna de las muestras dio resultados positivos para las proteínas Cry1F y CP4 EPSP. En la Tabla 1 se presentan los resultados para el análisis de la proteína Cry1Ab.

Tabla 1. Resultados del análisis para detección de la proteína Cry1Ab por DAS-ELISA.

Muestra	Nº sub-muestras positivas	p^*	%**
1	0/6	<1/100	<1%
2	0/6	<1/100	<1%
3	0/6	<1/100	<1%
4	0/6	<1/100	<1%
5	3/6	$\geq 1/100$	$\geq 1\%$
6	6/6	$\geq 1/50$	$\geq 2\%$
7	0/6	<1/100	<1%
8	0/6	<1/100	<1%
9	0/6	<1/100	<1%
10	0/6	<1/100	<1%
11	0/6	<1/100	<1%
12	0/6	<1/100	<1%
13	1/6	$\geq 1/300$	$\geq 0.33\%$
14	0/6	<1/100	<1%
15	0/6	<1/100	<1%
16	0/6	<1/100	<1%
17	0/6	<1/100	<1%
18	0/6	<1/100	<1%

* Frecuencia expresada como p con Pd del 95%. Para los casos 5,6 y 13 p es la frecuencia observada (ver Materiales y Métodos).

** Frecuencia expresada como %.

La Figura 2 muestra, a modo de ejemplo, los resultados obtenidos en una placa de DAS-ELISA. Las muestras se sembraron por duplicado en pocillos contiguos. Dos pocillos contiguos de color azul indican presencia de la proteína transgénica Cry1Ab en la muestra.

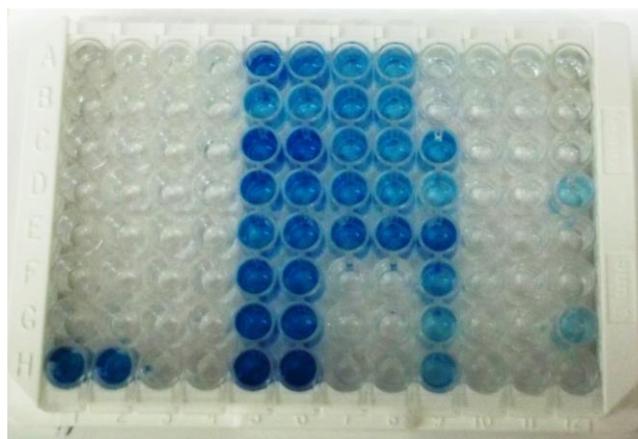


Figura 2. Placa para detección de la proteína Cry1Ab/1Ac por DAS-ELISA. Cada muestra ocupa dos pocillos en columnas contiguas hasta la columna 8 y en filas contiguas a partir de la columna 9. Dos pocillos contiguos azules indican presencia de la proteína transgénica en la muestra.

La muestra 5 (Figura 3A) correspondió a semillas de una productora de la zona periurbana de la ciudad de Treinta y Tres. Las semillas originalmente las obtuvo en el año 2013 de un productor de la zona. Este productor hace 8 años que viene reproduciendo estas semillas. Durante el año 2013 se analizó una muestra de 300 semillas de este productor no detectándose presencia de proteínas transgénicas. La hipótesis más factible es que el cultivo que hizo la productora en la zafra 2013/2014 haya recibido polen de algún cultivo de maíz GM cercano en el momento de la floración con lo que se produjeron eventos de interpolinización.

La muestra 6 (Figura 3B) correspondió a semillas de un productor convencional de la Zona de Rincón de Pando en el Departamento de Canelones. Las semillas provenían de un cultivo de $\frac{1}{4}$ hectárea realizado en la zafra 2013/2014. Para instalar el cultivo el productor utilizó semillas que viene multiplicando hace dos años a partir de un maíz híbrido que compró como grano para consumo de los animales y que desconocía si era GM o no-GM. Al analizar la muestra de 300 semillas se detectó presencia de la proteína Cry1Ab en las seis sub-muestras en que se dividió la muestra. Si bien sólo se puede afirmar que al menos 6 de las 300 semillas eran GM, es de esperar que la mayoría de las mismas fuesen GM. La hipótesis más factible es que el maíz a partir del cual comenzó a producir semillas, era GM.

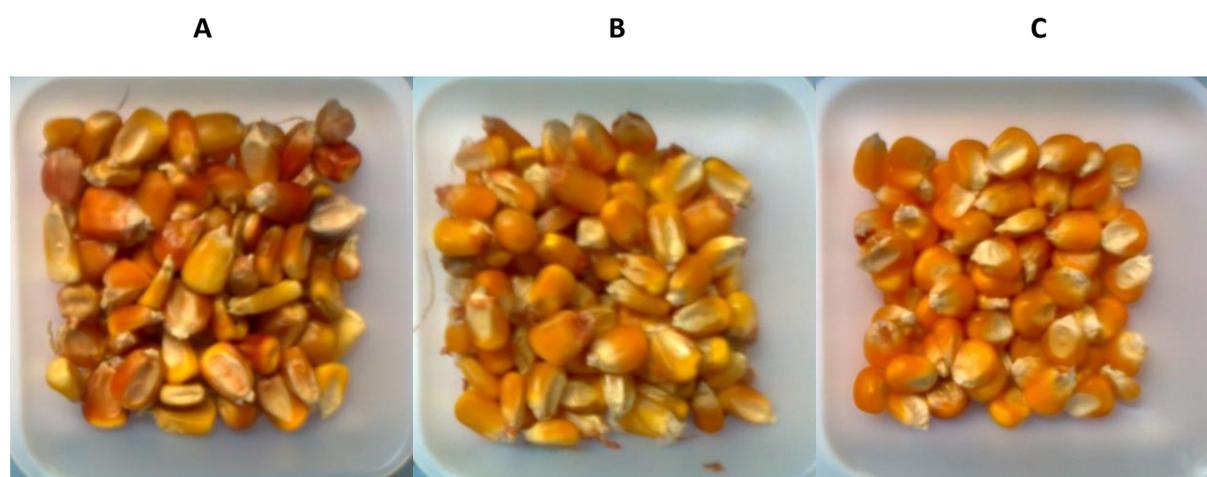


Figura 3. Muestras en las que se detectó la presencia de la proteína Cry1Ab.

A: muestra 5; B: muestra 6; C: muestra 13.

La muestra 13 (Figura 3C) correspondió a semillas de un productor orgánico de la zona de Tapia en el Departamento de Canelones. Las semillas fueron producidas en la zafra 2013/2014 de forma orgánica en un cultivo que abarcó $\frac{1}{2}$ hectárea. El productor hace más de tres años que viene multiplicando esta variedad criolla que obtuvo de un productor de la zona. Al analizar la muestra de 300 semillas se detectó presencia de la proteína Cry1Ab en una de las seis sub-muestras analizadas, por lo que al menos 1 de los 300 granos de la muestra expresaban la proteína. En este caso el origen de la contaminación puede estar en cruzamientos con cultivos de maíz GM en la zafra 2013/2014 o en zafras anteriores o deberse a la mezcla de semillas en la cadena de producción.

Conclusiones

En trabajos anteriores realizados en Uruguay sobre flujo de transgenes entre cultivos de maíz se encontró que se dan eventos de interpolinización entre cultivos de maíz GM y no-GM que tienen como consecuencia la presencia de transgenes en la progenie de cultivos no-GM.

En este trabajo se monitoreó en particular la presencia de transgenes en semillas de maíz utilizadas por productores vinculados a la Red de Semillas Nativas y Criollas. De los tres casos en que se detectó la presencia de proteínas transgénicas, dos correspondieron a semillas de variedades criollas mantenidas por los productores. En el año 2013 se había detectado la presencia de transgenes en cuatro muestras de maíces criollos de un total de ocho muestras analizadas. Estos datos confirman que en Uruguay las variedades de maíz criollo están introgressando transgenes. Esto tiene consecuencias negativas en cuanto a la identidad y la posibilidad de conservación in situ de estas variedades. Tiene además consecuencias perjudiciales desde el punto de vista económico para los productores que hacen agricultura orgánica y comercializan su maíz como orgánico dado que la presencia de transgenes inviabiliza su comercialización como tal. Este es el caso de dos de los productores en cuyas semillas se detectó la presencia de transgenes en el presente estudio.

Si bien la normativa vigente indica que la política a seguir por el Estado es la 'coexistencia regulada' entre distintas modalidades productivas, actualmente no hay en Uruguay una reglamentación que ampare a los productores de maíz criollo y/u orgánico. La detección de transgenes en sus semillas hace que los productores dejen de multiplicarlas y acudan a otros productores para obtenerlas, lo que reduce la diversidad de poblaciones de maíz criollo. Actualmente estamos planificando estrategias de 'descontaminación' de aquellas semillas que tienen un valor importante para el productor y/o para la Red de Semillas. De todas formas si no se toman medidas de manejo a partir de una reglamentación que ampare el derecho a producir cultivos no-GM, será cada vez más frecuente encontrar variedades de maíz criollo expresando proteínas transgénicas.

Agradecimientos

Agradecemos al Programa Uruguay Sustentable de REDES-AT y a la Fundación Heinrich Böll por impulsar y financiar este trabajo.

Agradecemos especialmente a los productores que aportaron sus semillas y brindaron información imprescindible para la realización de este estudio. Agradecemos además a Guillermo Galván, Bettina Porta y Rafael Vidal por aportar información valiosa para la realización de este informe.

Participaron en este estudio, Pablo Galeano, Marcelo Fosatti, Mariano Beltrán, Silvana Machado y Tacuabé González.

Referencias

- Berretta A, Condón F, Rivas M, 2007.** Segundo informe país sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Acceso en Marzo 2014.
<http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/Uruguay.pdf>
- Brown WL, 1975.** A broader germplasm base in corn and sorghum. Ann. Hybrid Corn Sorghum Ind. Res. Conf. Proc.1975 v. 30 p. 81-89.
- Burris JS, 2001.** Adventitious pollen intrusion into hybrid maize seed production fields. Proc. 56th Annual Corn and Sorghum Research Conference 2001. American Seed Trade Association, Inc., Washington, DC

- Clement CR, 2007.** "Conservação on farm." Em: Recursos genéticos vegetais. pp. 511-543.
- De María F, Fernández GM, Zoppolo JC, 1979.** Caracterización agronómica y clasificación racial de las muestras de maíz coleccionadas en Uruguay bajo el proyecto I.B.P.G.R. Tesis Ing. Agrónomo. Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Devos Y, Reheul D, DE SCHRIJVER A, 2005.** The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environ. Biosafety Res.* 4:71–87.
- Doebley J, 1990.** Molecular evidence for gene flow among zea species—genes transformed into maize through genetic-engineering would be transferred to its wild relatives, the teosintes. *Bioscience* 40:443–448.
- Galeano P, Martínez Debat C, Ruibal F, Franco Fraguas L, Galván GA, 2010.** Cross-fertilization between genetically modified and non-genetically modified maize crops in Uruguay. *Environ. Biosafety Res.* 9: 147–154. Disponible en: <http://www.ebr-journal.org/action/displayJournal?jid=EBS>.
- Galván G, González H, Vilaró F, 2005.** Estado actual de la investigación en poblaciones locales de hortalizas en Uruguay y su utilización en el mejoramiento. *Agrociencia* 9(1-2):115-122.
- Gutiérrez L, Franco J, Crossa J, Abadie T, 2003.** Comparing a preliminary racial classification with a numerical classification of the maize landraces of Uruguay. *Crop Science* 43:718-727.
- Harlan JR, 1972.** Genetics of disaster. *Journal of Environmental Quality* 1.3: 212-215.
- INASE 2014.** Datos disponibles en: <http://www.inase.org.uy/Sitio/Estadisticas/Default.aspx>. Consultado en diciembre 2014.
- Maxted N, Hawkes JG, Ford-Lloyd BV, Williams JT, 1997.** A practical model for *in situ* genetic conservation – complementary conservation strategies. In: Maxted, N.; Ford-Lloyd, B.V.; Hawkes, J.G., eds. *Plant genetic conservation*. London: Chapman & Hall, 1997. p.339-367.
- MGAP-GNBio. 2009.** Decreto 353/08. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,1,617,O,S,O,>
- MGAP-GNBio. 2014.** Datos disponibles en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,1,620,O,S,O,> Consultado en diciembre 2014.
- MGAP-DIEA, 2014.** Encuesta Agrícola 'Invierno 2014'
- MGAP-DIEA, 2013.** Encuesta Agrícola 'Invierno 2013'
- Piñeyro-Nelson A, van Heerwaarden J, Perales HR, Serratos- Hernández JA, Rangel A, et al. 2009.** Transgenes in Mexican maize: molecular evidence and methodological considerations for GMO detection in landrace populations. *Mol Ecol* 18:750–761.
- Sanou J, Gouesnard B, Charrier A, 1997.** Isozymes variability in West African maize cultivars (*Zea mays* L.). *Maydica*, 42, 1–11.
- Sanvido O, Widmer F, Winzeler M, Streit B, Szerencsits E, Bigler F, 2008.** Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation. *Transgenic Res* 17:317–335
- Van de Wouw M., Kik, C., Van hintum, T., Van Treuren, R. Visser, B. 2010.** Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant genetic resources: characterization and utilization* 8: 1-15.
- Vidal R, Bellenda F, Estramil E, Fernández G, Lafluf P, Olveira M, Ozer Ami H, Vivo G, 2009.** Obtención de una variedad de polinización abierta de maíz exitosa a partir de germoplasma local. VII Simposio de recursos genéticos para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile.