

Problemas con la coexistencia

A wide-angle photograph of a rural landscape. In the foreground, a dirt road with tire tracks leads from the bottom center towards the middle ground. On either side of the road are rows of corn plants, some appearing to be in the process of being harvested or cut down. The corn is supported by wooden stakes. In the background, there is a small farm with several buildings and trees on a slight rise. The sky is a clear, pale blue.

Guillermo Galván

Facultad de Agronomía • Universidad de la República
Uruguay

Coexistencia

Refiere a que el productor pueda optar entre producir cultivos convencionales, orgánicos o GM (Unión Europea 2003/556/EC)



CONSIDERANDO:

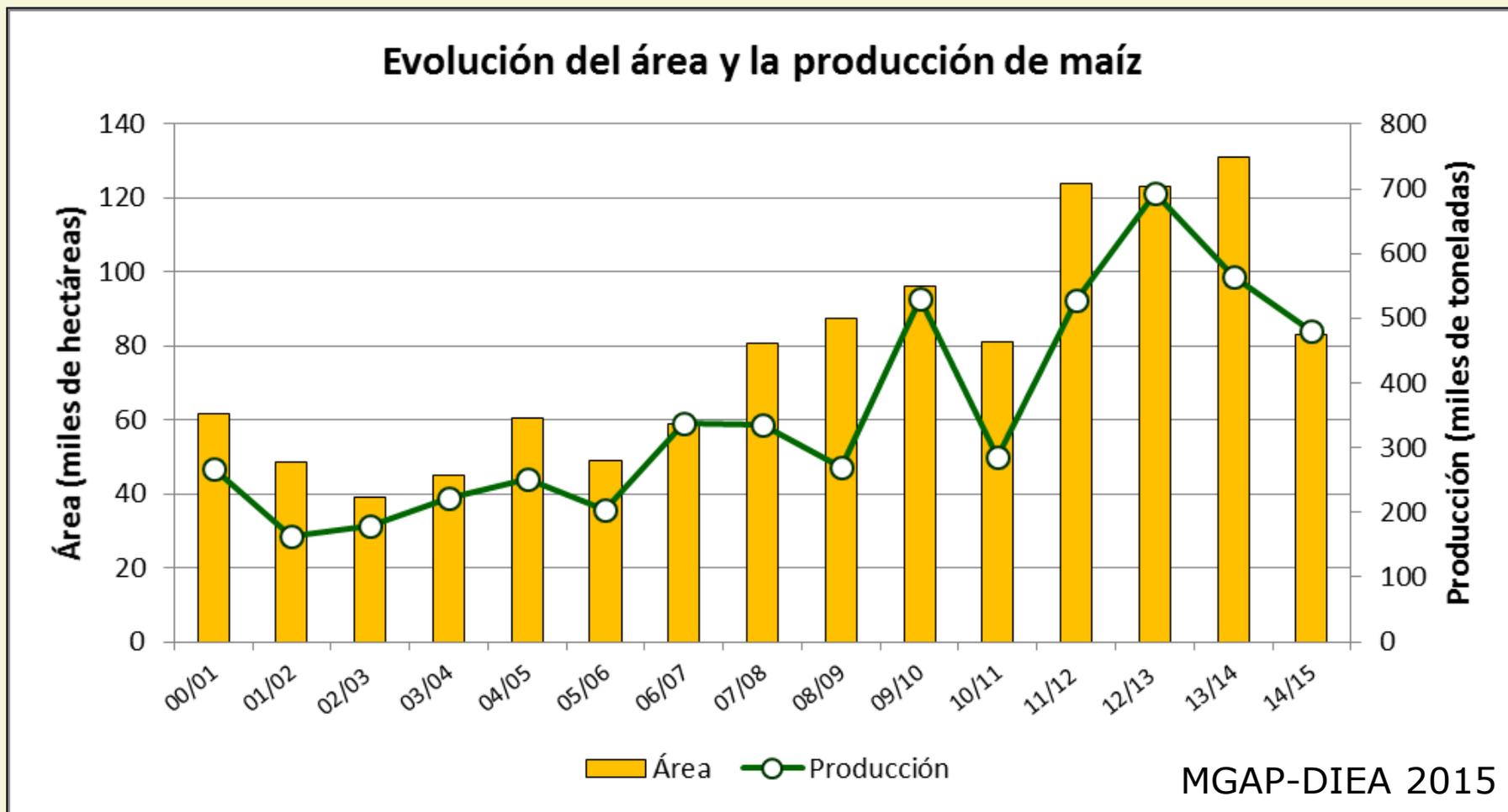
I) que es necesario, favorecer el empleo de herramientas que fortalezcan el desarrollo de las capacidades biotecnológicas nacionales y proceder a materializar la salida de la etapa denominada **moratoria** de organismos vivos de origen vegetal y sus partes genéticamente modificados, prevista en la norma precitada;

II) que es de interés la promoción de una política de **coexistencia** regulada entre vegetales genéticamente modificados y no modificados;

Decreto Presidencial 353/2008

Maíz

Situación del cultivo



Maíz

Situación del cultivo 2012-13

- 120.000 ha
- 2835 productores
- 2276 productores (80%)

sembraron menos de 20 has
3,5% de la superficie total
variedades criollas



Maíz

Variedades Criollas

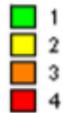
- Valor identitario
- Valor de uso (recurso genético)



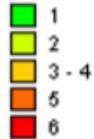
Riqueza de tipos de granos de las colecciones del cono sur

Vilaró, 2013

riqueza tipo grano brasil



riqueza tipo grano uruguay



riqueza tipo grano paraguay



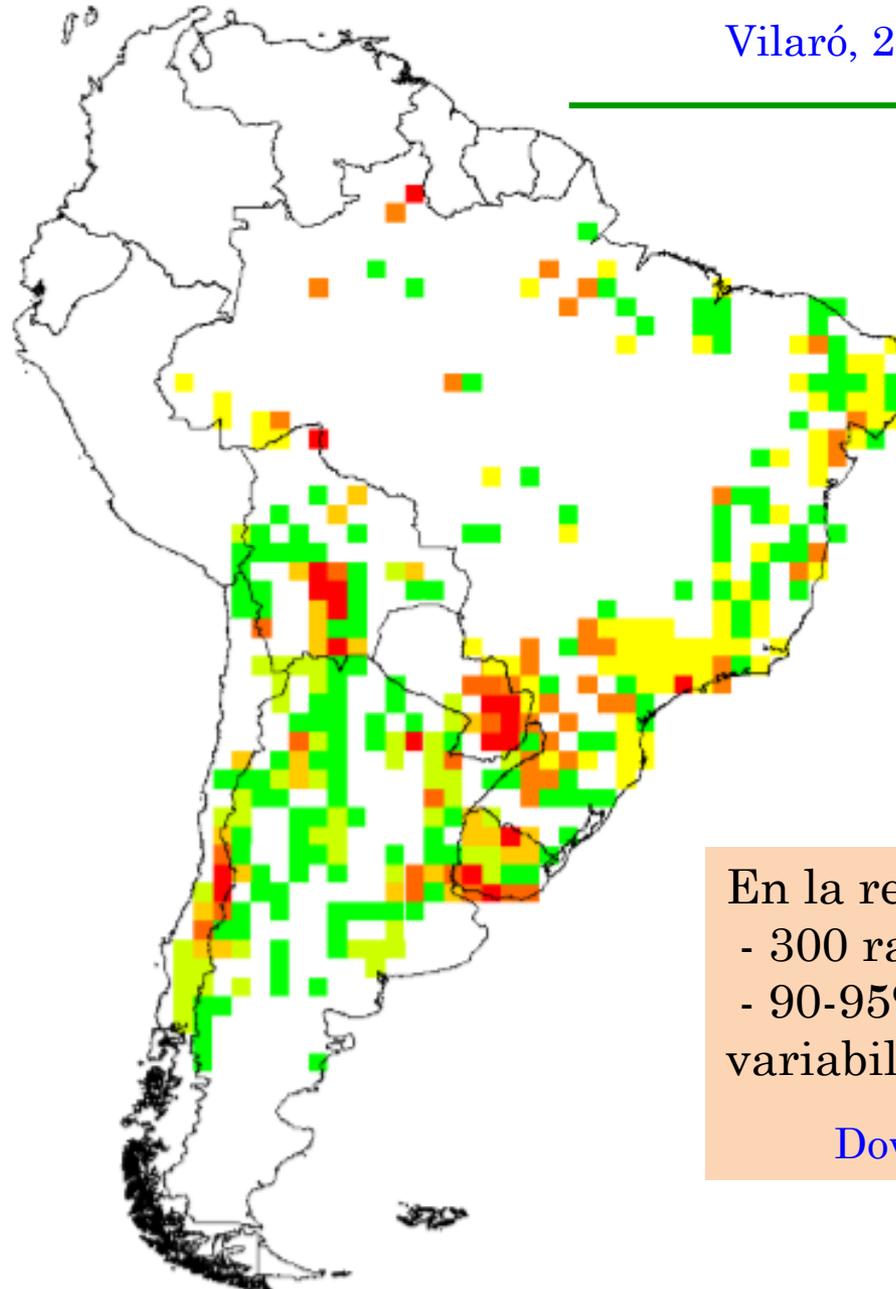
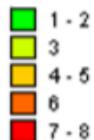
riqueza tipo grano chile



riqueza tipo grano argentina



riqueza tipo grano bolivia



En la región:

- 300 razas
- 90-95% de la variabilidad mundial

Dowswell et al. 1996



Variedades criollas

Proyecto PAIE-CSIC 2012



Nueva



Dente Riograndense



Dente Branco



Cateto Sulino Grosso



Cateto Sulino Escuro

Coexistencia



Cadenas de valor diferenciadas
Producción orgánica

Mantenimiento de variedades criollas
in situ – on farm

Estándar Especifico de Maíz (cultivares no híbridos)					
Especie:	Maíz				
Nombre científico:	<i>Zea mays L.</i>				
Peso máximo de lote (kgs.):	40.000				
Peso mínimo de las muestras:					
Muestra remitida (grs.):	1000				
Muestra de trabajo para análisis de pureza física (grs.):	900				
Muestra de trabajo para determinación en N° de otras semillas (grs.):	1000				
Parámetros		Niveles de tolerancia			
Campo		Prebásica - Básica	Certificada (C1* y C2**)	Comercial A	Comercial B
Categorías					
Rotación (Ciclos agrícolas sin cultivo de Maíz)		-	-	-	-
Aislamientos (metros) (1)		200	200	200	-
Plantas fuera de tipo/ 1000		5	10	10	-
Nº mínimo de inspecciones		1	1	1	-
Laboratorio					
Semilla pura (%)		98	98	98	98
Materia inerte (%)		2	2	2	2
Otras semillas (%)		0.1	0.1	0.1	0.1
Nº de semillas de otros cultivos/muestra		-	-	-	-
Nº de semillas de malezas con tolerancia/ muestra		-	-	-	-
Germinación (%)		90 (2)	90	90	90
Observaciones:					
* C1 - Semilla registrada. ** C2 - Semilla certificada					
El terreno no deberá tener plantas espontáneas de un cultivo anterior de maíz que pueda producir contaminación					
(1) En chacras menores a 10 hás. el aislamiento será de 300 mts. El aislamiento puede ser reducido 100 metros por una barrera natural densa sembrada en el borde					
Se consideran malezas con tolerancia cero en la muestra: Abrojo (<i>Xanthium</i> spp.), Capin anóni (<i>Eragrostis plana</i>), Cúscuta, Margarita de pira (<i>Coleostephus myconis</i>), Senecio (<i>Senecio madagascariensis</i>), Sorgo de alepo (<i>Sorghum halepense</i>)					
(2) La comercialización con menor germinación podrá ser realizada con el conocimiento del usuario y la autorización de INASE					

Producción de semilla de calidad en Uruguay

Maíz

- Especie monoica
- Alógama
 - polinización abierta
- Anemófila
 - dispersión del polen por el viento
- Una planta emite 5 millones de granos de polen



Análisis de riesgos GM

Fuente: Borsani et al 2010

Riesgos potenciales para el ambiente

- Que el propio cultivo transgénico se transforme en una especie invasora o maleza
- Efectos sobre organismos no blanco
- Existencia de flujo génico

Riesgos derivados de la práctica agrícola

- Desarrollo de resistencia en las malezas
- Desarrollo de resistencia en las plagas

Environ. Biosafety Res. 9 (2010) 147–154
© ISBR, EDP Sciences, 2011
DOI: 10.1051/ebr/2011100

Available online at:
www.ebr-journal.org

Case study

Cross-fertilization between genetically modified and non-genetically modified maize crops in Uruguay

Pablo GALEANO^{1,2*}, Claudio MARTÍNEZ DEBAT³, Fabiana RUIBAL³, Laura FRANCO FRAGUAS² and

¹ Departamento de Producción Vegetal, Centro Regional Sur (CRS), Facultad de Agronomía, Universidad de la República, km 36, Progreso, Canelones, Uruguay

² Cátedra de Bioquímica, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

³ Sección Bioquímica, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225



Programa de Vinculación Universidad-Sociedad y Producción

Modalidad 2

FLUJO DE TRANSGENES ENTRE CULTIVOS COMERCIALES DE MAÍZ EN URUGUAY

Informe Final Proyecto CSIC-SP 601

INFORME TÉCNICO

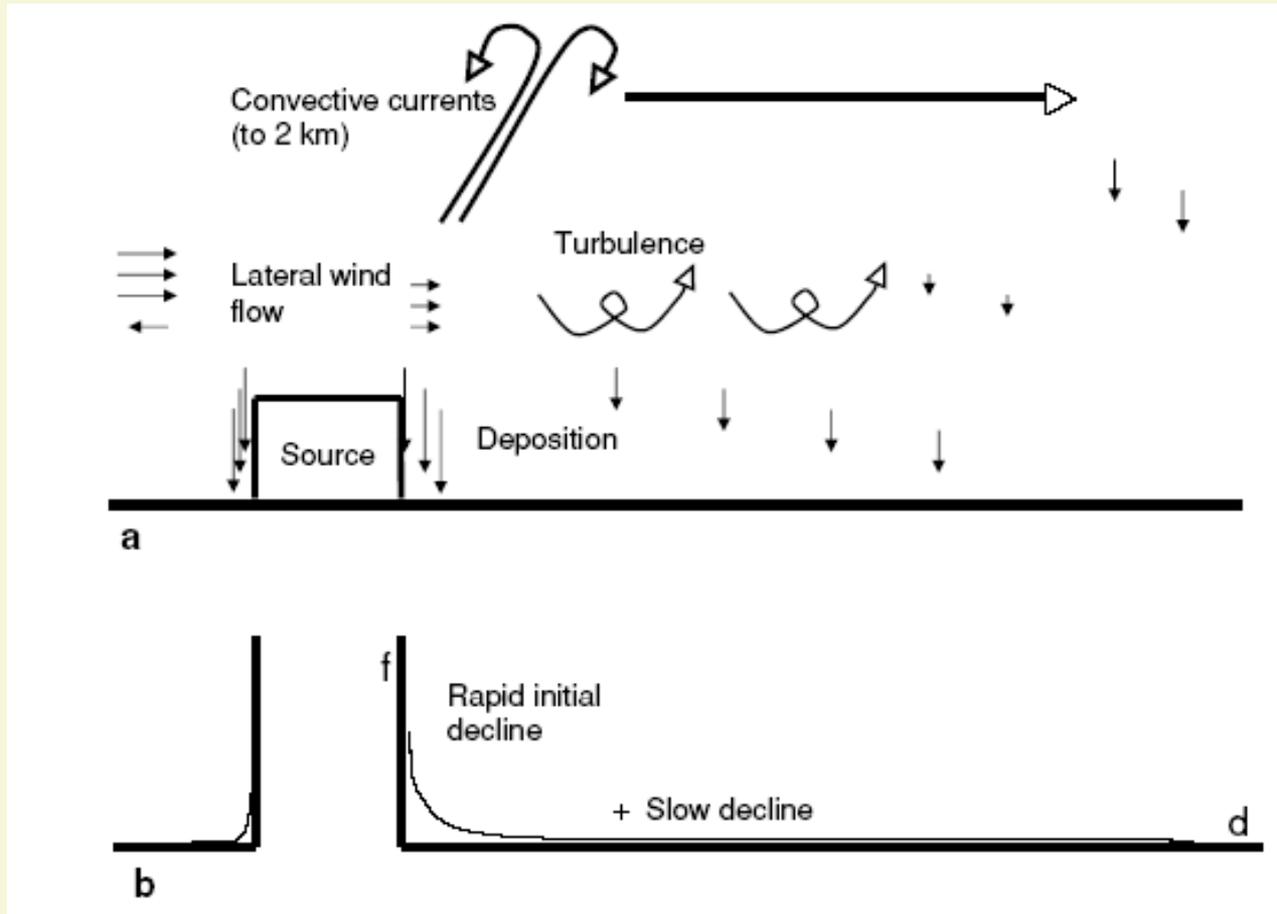
Relevamiento de la presencia de transgenes en maíces de productores de la Red de Semillas Criollas.



Montevideo, Uruguay

Mayo 2013

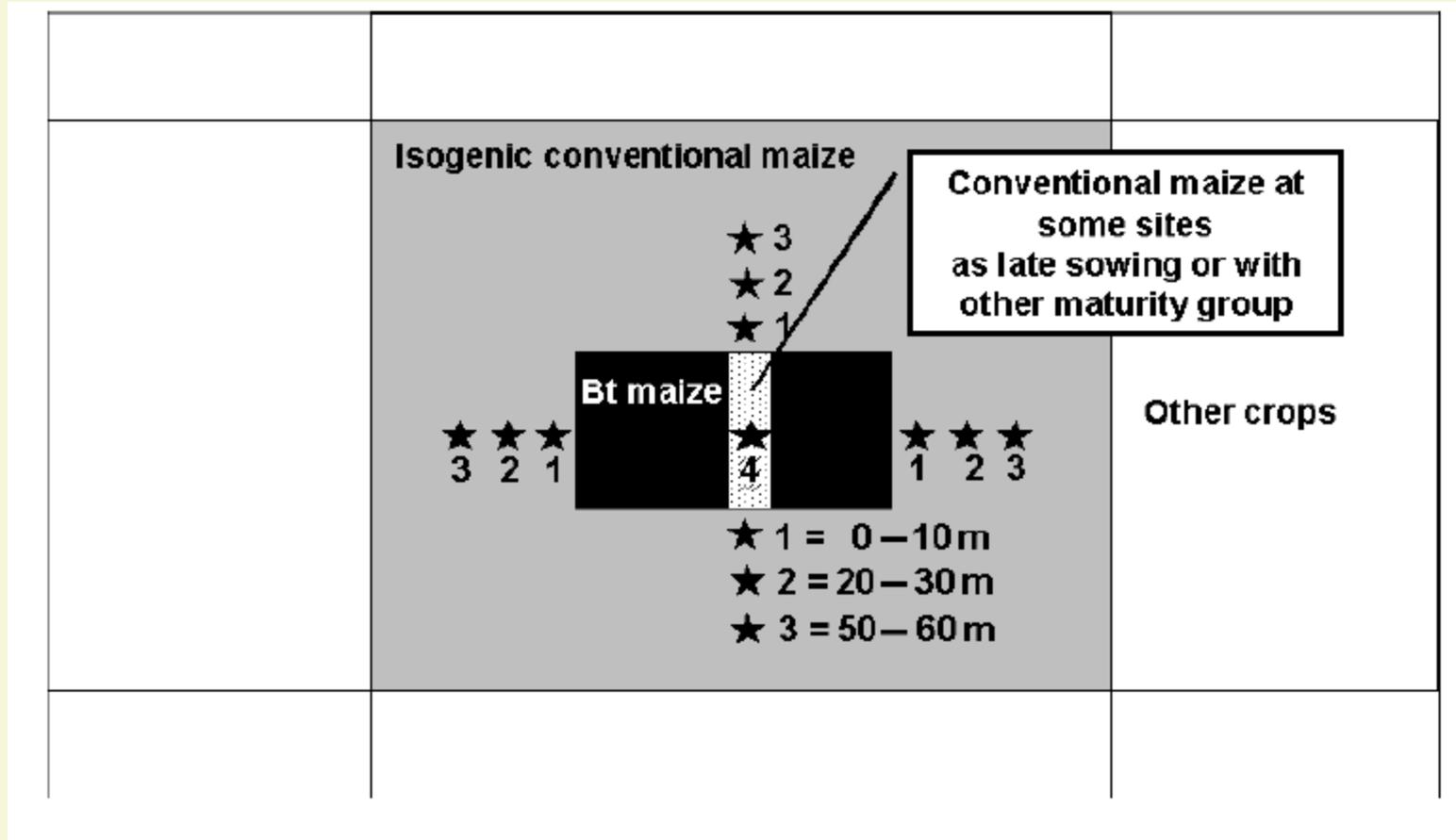
Dispersión del polen



Ramsay (2005) en "Gene Flow from GM Plants"

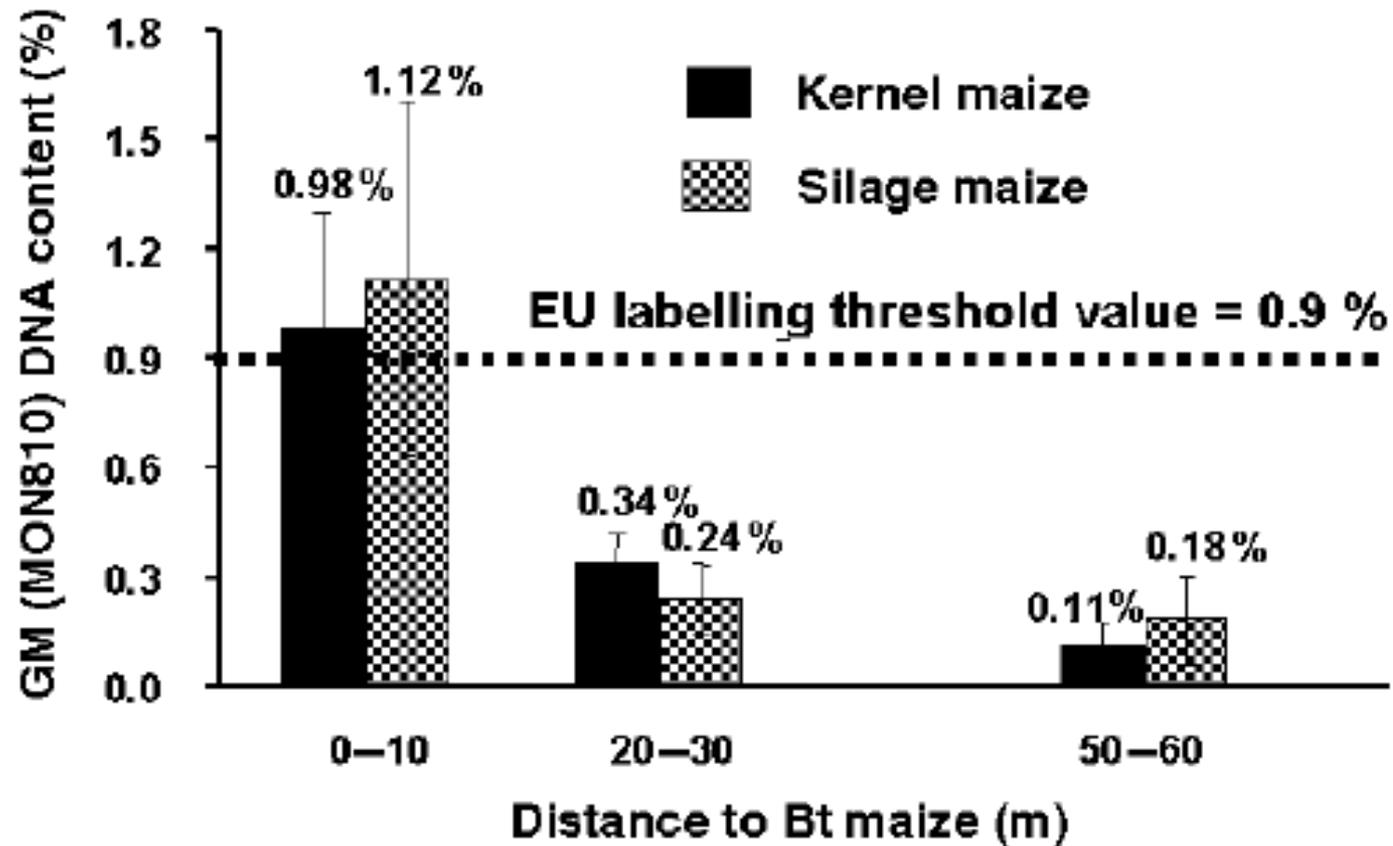
Blackwell (2005)

Dispersión del polen



Weber et al, 2007 (Alemania)
J. Agronomy & Crop Science 193, 79–92

Dispersión del polen



Weber et al, 2007 (Alemania)
J. Agronomy & Crop Science 193, 79—92

Dispersión del polen

- Luna et al. (2001, México)

Máxima distancia lateral teórica 32 km
Polinización cruzada a 200 m pero no a 300 m

- Weekes et al. (2003, UK)

Polinización cruzada a más 630 m

- Brunet et al. (2003)

Polen en la atmósfera hasta una altitud de 1.8 km. Las concentraciones variaron entre 0.2 y 1.1 granos/m⁻³ y la viabilidad entre 5 y 10%.

- Ramsay (2005)

El aislamiento total no es posible

Dispersión del polen

RESEARCH ARTICLE

Pollen-Mediated Gene Flow in Maize: Implications for Isolation Requirements and Coexistence in Mexico, the Center of Origin of Maize

Baltazar M. Baltazar¹*, Luciano Castro Espinoza², Armando Espinoza Banda³, Juan Manuel de la Fuente Martínez⁴, José Antonio Garzón Tiznado⁵, Juvencio González García⁶, Marco Antonio Gutiérrez², José Luis Guzmán Rodríguez⁷, Oscar Heredia Díaz⁴, Michael J. Horak¹, Jesús Ignacio Madueño Martínez⁵, Adam W. Schapaugh¹, Duška Stojšin¹, Hugo Raúl Uribe Montes⁶, Francisco Zavala García⁷



1 Monsanto Company, 800 North Lindbergh Blvd, St. Louis, Missouri, 63167, United States of America, **2** Instituto Tecnológico de Sonora, Dirección de Recursos Naturales, 5 de Febrero 818 Sur, Colonia Centro Cd. Obregón, Sonora, C.P. 85000, México, **3** Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera Santa Fe, Col. Valle Verde, Torreón, Coahuila, C.P. 27059, México, **4** Monsanto Comercial, Park Plaza Torre II, piso 1. Ave. Javier Barros Sierra #504, Col. Santa Fe, Del. Álvaro Obregón, México D.F., CP 01210, México, **5** Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Ave. Las Américas y Josefa Ortiz, S/N Culiacán, Sinaloa, C.P. 80000, México,

Objetivo

Evaluar la ocurrencia y frecuencia con que se da el flujo de transgenes entre cultivos comerciales de maíz GM y no-GM en Uruguay.

Maíces transgénicos en Uruguay

Evento	Empresa	Rasgo	Transgen	Año
MON810	Monsanto	RL	Cry1Ab	2003
Bt11	Syngenta	RL/TGlu	Cry1Ab / PAT	2004



Evento	Empresa	Rasgo	Transgen	Año
MON810	Monsanto	RL	Cry1Ab	2003
Bt11	Syngenta	RL/TGlu	Cry1Ab / PAT	2004
GA21	Syngenta	TGli	mEPSPS	2011
GA21xBt11	Syngenta	RL/TGlu,Gli	Cry1Ab/ PAT/ mEPSP	2011
TC 1507	Pioneer / Dow	RL/TGlu	Cry1F / PAT	2011
NK603	Monsanto	TGli	CP4 EPSPS	2011
MON810xNK603	Monsanto	RL/TGli	Cry1Ab / CP4EPSP	2011
TC 1507xNK603	Pioneer / Dow	RL/TGlu,Gli	Cry1F / PAT / CP4 EPSP	2012
GA21xMIR162xBt11	Syngenta	RL/TGlu,Gli	mEPSP / vip3Aa20 / Cry1Ab	2012
MON89034xTC1507xNK603	Monsanto/Dow	RL/TGlu,Gli	Cry1A.105 / Cry2Ab2 / Cry1F / PAT / CP4 EPSP	2012

Metodología

Muestreos de casos

Cultivos comerciales



- **Identificación de casos con potencial riesgo de interpolinización**
¿Cuántos choclos coleccionar?
 - Muestreo de hojas de maíz para confirmar identidad GM o no-GM
Para una población n con una frecuencia p de OGMs,
 - **Definición de sitios dentro de la chacra no-GM**
 $P_d = 1 - (1 - p)^n$
 - Colecta de choclos y hojas de plantas madres para producción de la progenie del cultivo no transgénico
Para P_d 95% y p 0,01
 $n = 300$
- (Piñeyro-Nelson et al., 2009).

Muestreo

Zafra 2010/2011

Caso	Cultivo no-GM			Distancia (m) y orientación	Cultivo GM		Δ en la siembra (días)
	Cultivar	Área (ha)	Sitios		Evento	Área (ha)	
1	Criollo	0.3	1	420 SW	MON810	10.0	- 14
2	Blanco Cangüé	13.0	2	1400 SE	MON 810	30.0	-15
3	Blanco Cangüé	2.5	2	0	MON 810	0.7	1
4	Híbrido no-GM	1.3	3	500 NE	MON810	0.8	-7
5	ACA926	6.5	3	1600 SW	MON810	9.0	- 12
6	ACA926	7.0	1	1225 SW	MON810	9.0	- 12
7	Criollo	1.1	3	550 E	MON810	3.0	0

Muestreo

Zafra 2011/2012

Caso	Cultivo no-GM			Distancia (m) y orientación	Cultivo GM		Δ en la siembra (días)
	Cultivar	Área (ha)	Sitios		Evento	Área (ha)	
1	IPB 780 CL	5.8	3	810 SE	MON810	7.9	15
2	Criollo	1.7	4	2430 NE	MON 810	2.5	12
3	Hijo de híbrido	1.4	8	24 E	MON810	2.5	2
4	Criollo	0.1	1	1.030 E	MON810	7.9	15
5	Blanco Cangüé	10.0	12	260 NE	MON810	11.5	5

Metodología

Zafras 2010/11 y 2011/12

- 56 chacras en San José, Colonia, Soriano, Lavalleja, Canelones, Rocha.
- 12 situaciones con potencial riesgo de interpolinización

1.500 muestras de hojas para confirmación identidad

En un caso el cultivo 'no-GM' tenía individuos GM

Muestreo: 952 choclos de 43 sitios en las chacras no-GM

Progenie del cultivo no-GM

Siembra de 10 granos por choclo

En total 13.310 plantines

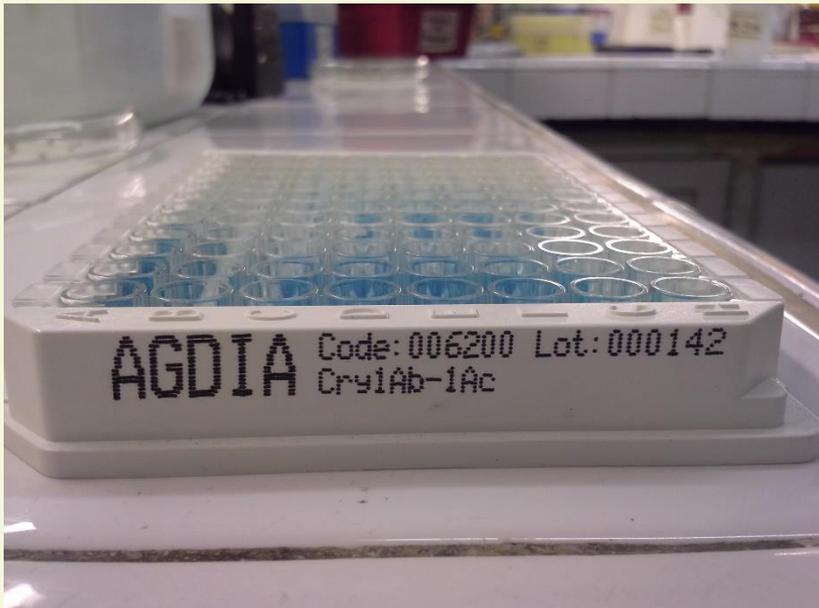
Los plantines se colectaron en grupos de aprox. 60 individuos



Detección de proteína Cry1Ab

Por DAS-ELISA (kit Agdia para Bt-Cry1Ab/1Ac)

- Extracción de proteínas
- Incubación en placa con conjugado enzimático
- Lavado y agregado de sustrato
- Controles positivos y negativos (Agdia)

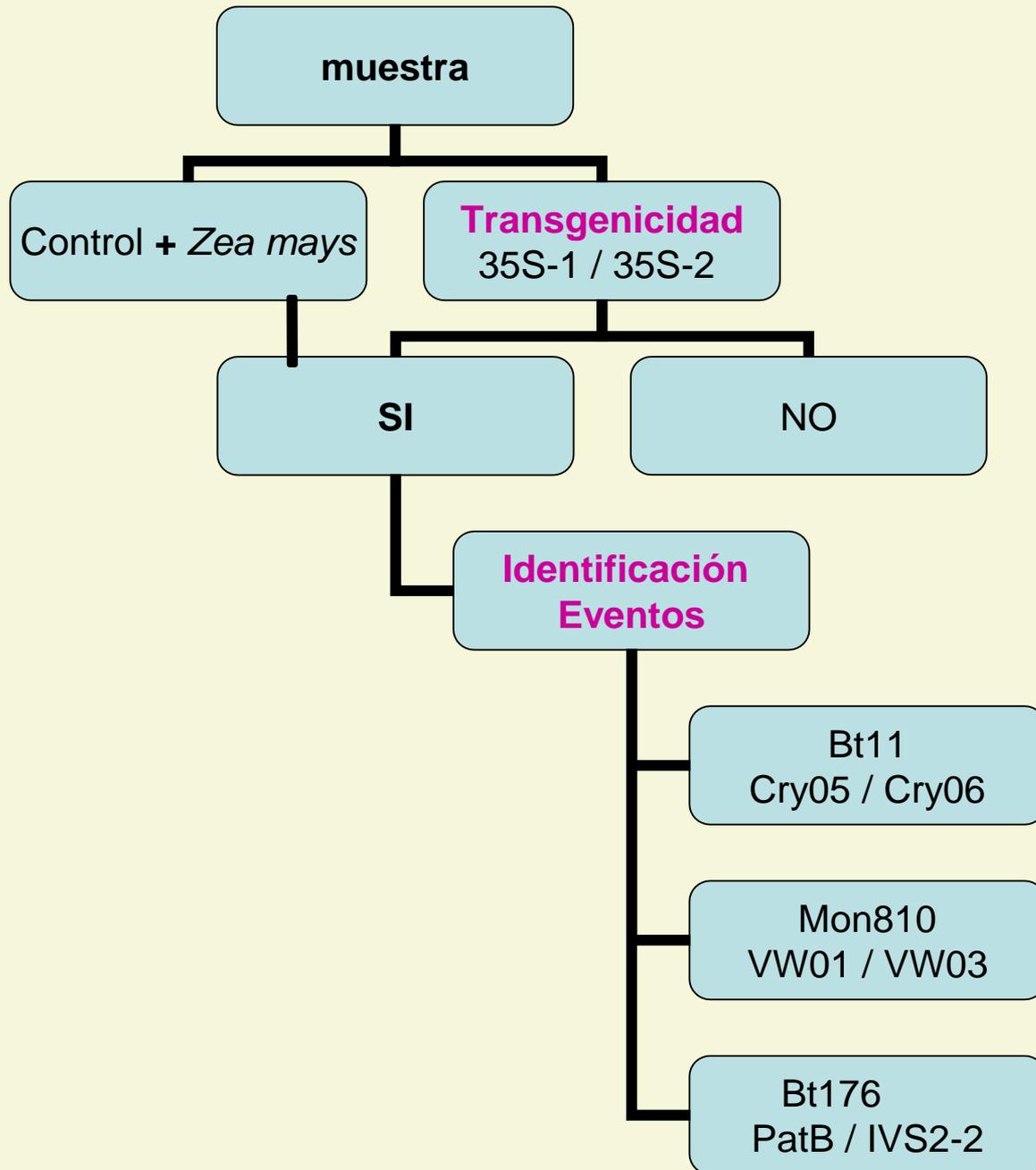


Detección molecular de transgenes

Cebadores utilizados

Transgenicidad	35S-1 / 35S-2
Control + <i>Zea mays</i>	IVR1 / IVR2
Identificación Eventos	
Bt11	Cry05 / Cry06
Mon810	VW01 / VW03

Estrategia
Analítica
PCR



Maíz MON810



Maíz Bt11



Maíz NK603



Maíz TC1507



Maíz GA21



Maíz Mon89034



Maíz Mir162



Resultados

Zafra 2010/2011

Caso	Sitios	DAS-ELISA		PCR		
		Pl.+s/totales	P (%)	35S	MON810	Bt11
1	1	2/226	0,9	+	+	-
2	1;2	0/259;0/279	<1,1;<1,1			
4	1;2;3	0/294;0/305;0/296	<1;<1;<1	-;-;-	-;-;-	-;-;-
5	1;2;3	0/346;0/329; 3/316	<0,9;<0,9; 0,9	+	+	-
6	1	0/202	<1,5			

De 5 casos, en 2 se detectó presencia de transgenes en la progenie del cultivo no-GM

Departamento de Soriano

Chacra no-GM: 3000 m² maíz criollo

Chacra GM: 10ha, maíz MON810

Dif. en la siembra 14 días; Distancia 420 m

Frecuencia 0,88%



Departamento de Soriano

Chacra no-GM: 6,5 ha maíz híbrido

Chacra GM: 9 ha, maíz MON810

Dif. en la siembra 12 días; Distancia 1600 m

Frecuencia 0,95%



Resultados

Zafra 2011/2012

Caso	Sitios	DAS-ELISA		PCR		
		Pl.+s/tales	P (%)	35S	MON810	Bt11
1	1;2;3	1/322 ;0/290;0/312	0,3 ; <1; <1	+	+	-
3	1;2;3;4 5;6;7;8	7/300 ; 3/303 ; 0/300; 0/300 0/304; 0/303; 0/304; 0/301	2,3 ; 1 ; <1; <1	++	++	-;
4	1	0/82	<3,6			
5	1;2;3	0/311; 7/311 ; 4/321	<1; 2,3 ; 1,2	++	++	-;
	4;5;6	0/309; 0/305; 0/319	<1; <1; <0,9			
	7;8;9	1/286 ; 0/304; 0/306	0,3 ; <1; <1	+	+	-
	10;11;12	0/308; 1/304 ; 0/304	<1; 0,3 ; <1	+	+	-

De 4 casos, en 3 se detectó presencia de transgenes en la progenie del cultivo no-GM

Departamento de Soriano

Chacra no-GM: 5,8 ha maíz híbrido

Chacra GM: 7,9 ha, maíz MON810

Dif. en la siembra 15 días; Distancia 810m

Frecuencia 0,31%



Departamento de Lavalleja

Chacra no-GM: 1,4 ha maíz hijo de híbrido

Chacra GM: 2,5 ha, maíz MON810

Dif. en la siembra 2 días; Distancia 24m

Frecuencias: Sitio1 2,3%;
Sitio 2 1,3%



Departamento de Canelones

Chacra no-GM: 10 ha maíz variedad

Chacra GM: 11,5 ha, maíz MON810

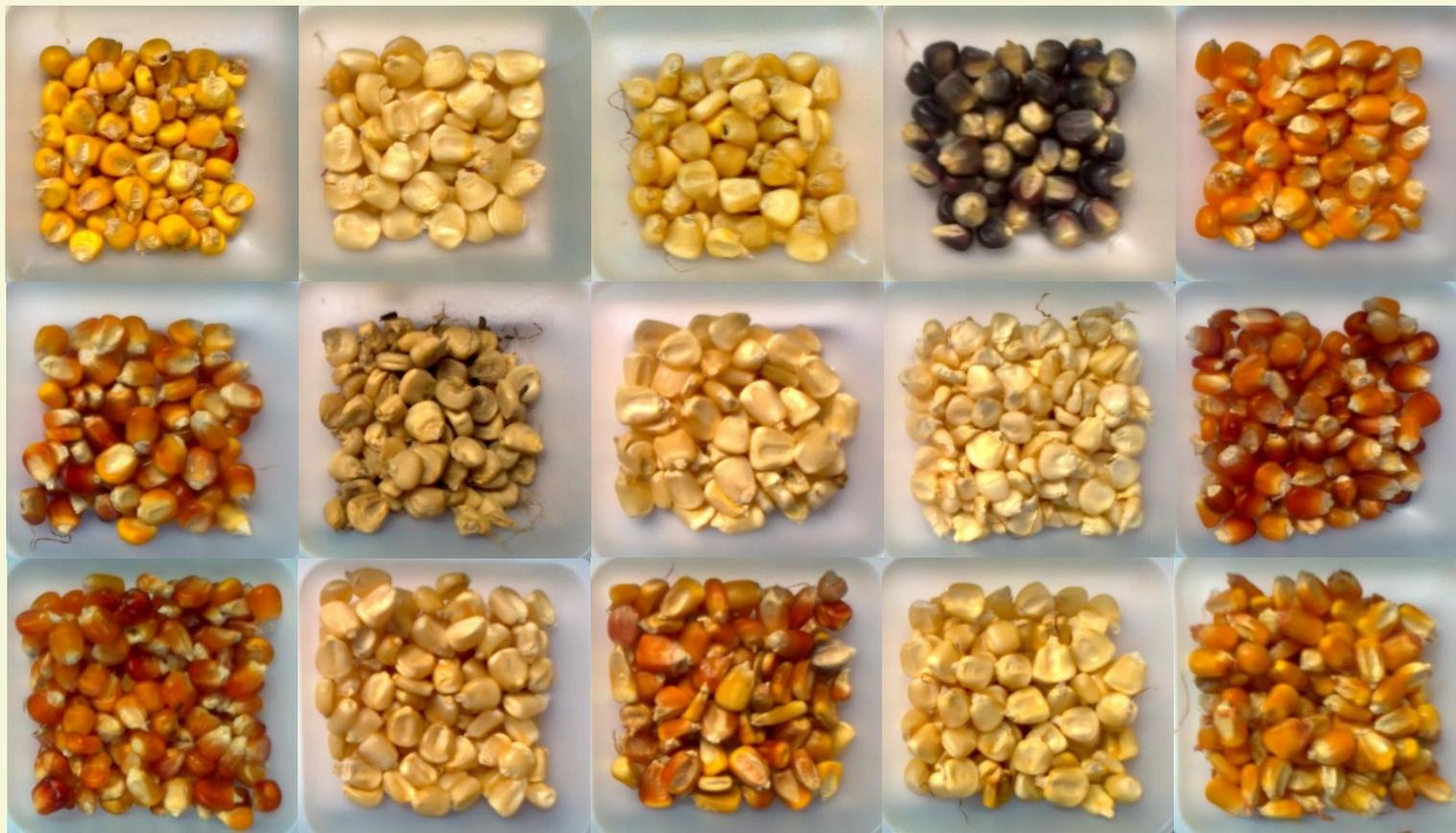
Dif. en la siembra 15 días; Distancia 260, 310 y 360m

Frecuencias: Sitio 2 2,3%; Sitio 3 1,2%
Sitio 7 0,35%; Sitio 11 0,33%



En síntesis...

- ✓ En Uruguay existe flujo de transgenes desde cultivos comerciales de maíz GM hacia cultivos de maíz no-GM.
- ✓ En cinco de nueve casos con riesgo de interpolinización, se detectaron transgenes en la progenie no-GM (Zafras 2010-11 y 2011/12)
- ✓ Las distancias, en los casos en que se constató el flujo, fueron de los 24 a los 810 metros.
- ✓ En uno de los casos la presencia de transgenes tendría origen en el propio cultivo no-GM.
- ✓ Tres de estos casos corresponden a cultivos de los cuales se usará parte de la cosecha como semilla



INFORME TÉCNICO

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

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 %.



Equipo de Trabajo

Pablo Galeano, Laura Franco-Fraguas

Cátedra de Bioquímica, DepBio, Facultad de Química

Claudio Martínez Debat

LaTraMa, Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias

Guillermo Galván, Bruno Rocha

Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía