

INFLUENCIA DE LOS REBROTOS EN EL CONTENIDO DE OGM DEBIDO A LA POLINIZACIÓN CRUZADA



Figura 1. Rebrotos en un campo de maíz.

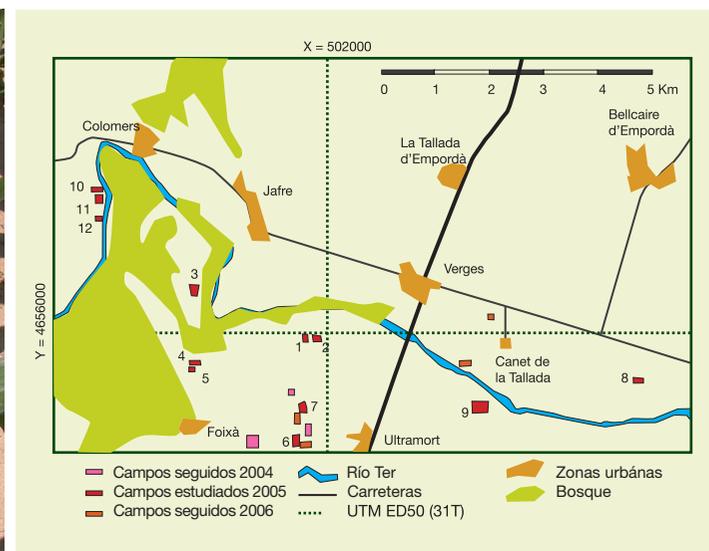


Figura 2. Esquema de la zona del bajo Ter donde están localizados los campos rebuscados.

01 Introducción

Los rebrotos son plantas germinadas a partir de granos aislados, fragmentos de mazorca o mazorcas enteras que caen a tierra durante la cosecha anterior (Figura 1). Así, si un año se siembra una variedad de maíz transgénica y al año siguiente se cambia por una convencional, los rebrotos aparecidos en este campo pueden actuar como foco donador de polen modificado genéticamente, y por lo tanto, introducir una presencia adventicia de transgénico al campo convencional. Este estudio pretende cuantificar esta presencia y determinar la importancia de los rebrotos en la coexistencia.

Este trabajo se llevó a cabo durante tres años. El 2004 y el 2006 se siguieron los rebrotos de diferentes campos, pero el 2005 fue el año en que se realizó el estudio sistemático, puesto que fue

durante aquella campaña cuando el número de hectáreas cultivadas con variedades convencionales creció de manera importante, por el anuncio por parte de las administraciones de la posible implantación del Decreto de Coexistencia.

02 Metodología del estudio

El año 2005 se siguieron 12 campos en la zona del bajo Ter Foixà (Baix Empordà) donde se había cultivado maíz transgénico en el 2004, y convencional el 2005 (Figura 2). El muestreo consistía en el seguimiento de diversas parcelas, escogidas al azar, donde se contabilizaron los rebrotos crecidos en la línea de plantas sembradas y los rebrotos crecidos en las regueras, entre medias de dos líneas. Este hecho es importante, puesto que en el caso de campos irrigados a través de regueras, al hacerlo se eliminan todos los rebrotos entre líneas.

Además, cada rebrote se clasificó según si se trataba de plantas individuales (crecidas a más de 15 cm de distancia de cualquier otra planta), un grupo de rebrotos, o bien plantas apiñadas, cuando crecían a menos de 5 cm de distancia entre ellas. Este último grupo corresponde a aquellas plantas germinadas a partir de un fragmento de mazorca o bien una mazorca entera (Figura 3).

Los rebrotos suelen ser plantas poco vigorosas y que pocas veces llegan a producir mazorca, pero que en muchas ocasiones sí que llegan a hacer polen. Por eso es por lo que se hizo el seguimiento del porcentaje que llegaban a florecer en una zona de 100 m² en cuatro campos diferentes con alta densidad de rebrotos, dividiendo las zonas en cuadrados de un metro, de los cuales se siguieron 15 cuadrados con los diferentes tipos de rebrotos descritos (individuales, grupos y plantas apiñadas). Estos cuadrados no fueron seleccionados al azar, sino que se hizo para determinar el porcentaje de rebrotos de cada tipo que llegaba a florecer. De estos cuatro campos, dos eran regados por aspersión y dos por gravedad (regueras o surcos), para representar los sistemas de riego mayoritarios en la zona.

Como que los rebrotos estudiados eran procedentes de maíz modificado genéticamente, y teniendo en cuenta que el maíz es hemicígotico para el carácter transgénico Bt, se esperaba que el 75% de los rebrotos tuvieran al menos una copia del carácter Bt. La naturaleza transgénica de los rebrotos muestreados se comprobó mediante el test comercial Trait Bt1 Corn Leaf and Seed Kit, de TraitCheckTM, Strategic Diagnostics Inc., Newark, USA, obteniendo un 73% de plantas positivas (Figura 4). En el caso de las plantas apiñadas se juntaba el material

→
Los rebrotos son plantas germinadas a partir de granos aislados, fragmentos de mazorca o mazorcas enteras que caen a tierra durante la cosecha anterior

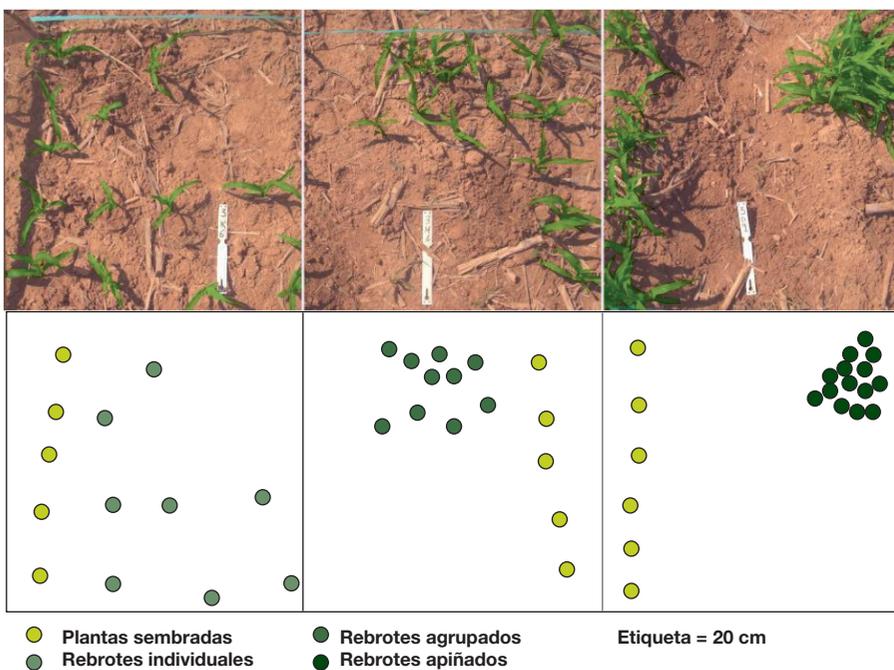


Figura 3. Clasificación de los rebrotos en plantas individuales, grupos o plantas apiñadas.

de unas 10-15 plantas y se realizaba un solo análisis. Para evaluar la capacidad de fertilizar el polen emitido por los rebrotos muestreados, se escogieron 27 plantas, de cuatro campos diferentes, que llegaron a madurez fisiológica. Por cada uno de estos rebrotos, se recogieron las tres mazorcas de plantas convencionales más próximas, y se analizó el contenido de transgénico mediante PCR cuantitativa. Asimismo, también se analizó el contenido de transgénico de la cosecha del campo.

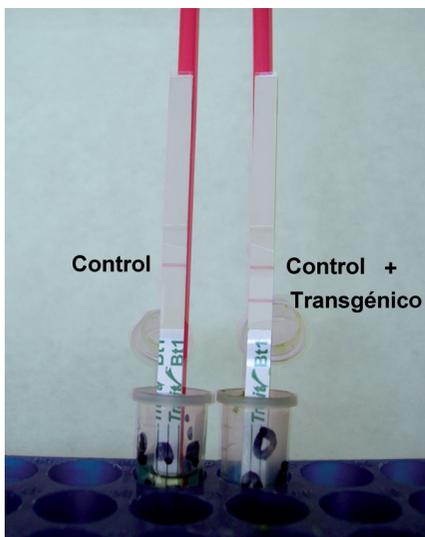


Figura 4. Test para determinar si una planta es transgénica o no. La banda de arriba revela la presencia de un gen típico del maíz, mientras que la de abajo revela la presencia del transgen (gen MON810). Así, de las plantas testadas, las que aparecían con dos bandas eran transgénicas, mientras que si sólo tenían una, eran convencionales.

03 Resultados y discusión

Entre los resultados obtenidos hay que destacar la gran diversidad de densidades de rebrotos entre los campos (Tabla 1). Así por ejemplo, para los campos 2 y 12 el número de rebrotos por hectárea es muy bajo mientras que para el campo 6 se encuentran casi un 10% del total de plantas como rebrotos. Son muchos los factores que intervienen en esta diferencia de densidades. Los rebrotos son consecuencia de pérdidas de grano antes o durante la cosecha. Antes de la cosecha estas pérdidas pueden ser producidas por daños ocasionados a las plantas por el viento, haciendo caer las mazorcas por debajo del nivel de cosecha de la maquinaria. Este factor está relacionado con la variedad de maíz sembrada y la frecuencia y la intensidad del viento. Durante la cosecha, las pérdidas también dependen del tipo y de la eficiencia de la maquinaria utilizada para recolectar. Además, algunas cosechadoras descartan los pequeños granos de la parte apical de la mazorca, no desgranando expulsándola al suelo; que si bien no son importantes por la producción del campo, estos granos pueden tener, en muchos casos, capacidad germinativa.

Durante la temporada siguiente, el momento que el agricultor trabaja el campo depende de la variedad a sembrar, de las condiciones climáticas y de la disponibilidad de la maquinaria. Así, al trabajar el campo para una siembra tar-



Los rebrotos suelen ser plantas poco vigorosas, que pocas veces llegan a producir mazorca, pero que en muchas ocasiones sí que llegan a hacer polen.

día, se eliminan la mayor parte de los rebrotos, que ya habrán germinado; mientras que si el campo se prepara para hacer una siembra temprana, los rebrotos en algunos casos se pueden desarrollar normalmente.

La densidad media de rebrotos en la región testada fue de 0,24 rebrotos/m² durante el 2005. Este número fue calculado ponderando el número de rebrotos por la medida de cada campo; por lo tanto, se trata de una aproximación, puesto que los campos no fueron escogidos aleatoriamente.

Al estudiar la incidencia de los rebrotos por años (Tabla 2), se ve que las condiciones climáticas podrían ser condicionantes; así, el otoño de 2004 fue seco, por lo cual los rebrotos no germinaron hasta la primavera siguiente. En cambio, durante los años de otoños lluviosos, los rebrotos germinan y mueren durante las heladas de invierno. Este hecho explicaría la ausencia de rebrotos en zonas frías del centro y el norte de Europa.

Si se tiene en cuenta el tipo de rebrotos (individual, grupo o plantas apiñadas) en el estudio de los diversos campos (Figura 5), hace falta destacar que los campos con bajas densidades (1, 2 y 12) contenían sólo rebrotos individuales. Los campos con más altas densidades (3 y 6) mostraban distribuciones diferentes: las plantas apiñadas eran mayoritarias en el campo 3, mientras que prácticamente no se encontraron en el campo 6. Los campos con densidades intermedias también mostraron patrones diferentes; así, encontramos muchas plantas apiñadas en el campo 11, pero casi no se encuentran en el campo 7.

Para estimar los rebrotos que llegaban a madurez fisiológica, se consideró el tipo de riego aplicado al campo. La práctica utilizada mayoritariamente en la zona es por gravedad, por lo tanto hace falta tener en cuenta que los rebrotos sitios en las regueras o surcos, desaparecen al cavar los surcos.

PARCELA	Nº ZONAS ANALIZADAS	ÁREA MUESTREADA (ha)	REBROTOS TOTALES	REBROTOS/HA ± S.E.
1	4	0.022	7	312.7 ± 312.7
2	7	0.065	4	61.9 ± 46.4
3	10	0.131	933	7111.4 ± 949
4	8	0.132	777	5886.3 ± 1349.4
5	6	0.061	25	408.4 ± 185
6	8	0.081	707	8728.3 ± 1807.4
7	5	0.047	75	1600 ± 401.9
8	11	0.215	107	498.8 ± 136.2
9	8	0.094	19	202.9 ± 191
10	7	0.053	171	3257.1 ± 769.1
11	8	0.123	57	461.7 ± 315.9
12	6	0.089	3	33.6 ± 23

Tabla 1. Número total de rebrotos contabilizados en las parcelas muestreadas. El número de zonas analizadas por campo depende de la forma y la medida del campo. La columna final muestra la densidad de rebrotos (rebrotos por hectárea) de cada campo con un error estándar estimado.

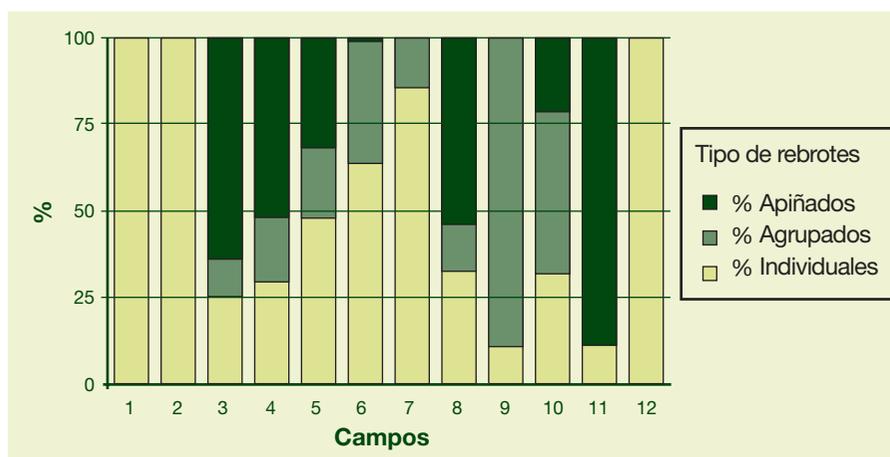


Figura 5. Porcentajes de rebrotos individuales, agrupados o apiñados en los campos rebuscados.

Los rebrotos estudiados mostrarán menos vigor que el maíz cultivado, no llegando a producir mazorca en la mayoría de los casos y desarrollando una flor masculina muy pobre, pero productora de polen (Figura 6).

Esta pérdida de vigor puede ser debida a varios factores, como las duras condiciones ambientales que ha debido soportar la semilla durante el invierno, la profundidad a la cual ha quedado enterrada la semilla o el carecer de espacio en caso de las plantas apiñadas y los grupos de rebrotos. El factor más importante es, la pérdida del vigor híbrido. La competencia entre plantas

germinadas a poca distancia es también un factor determinante a la hora de llegar a floración. Así, más del 80% de rebrotos individuales produjeron polen mientras que sólo un 35% de las plantas apiñadas no llegaron a producir (Figura 7). La densidad de rebrotos que llegaron a formar un penacho visible fue de un rebrote/10 m² durante el 2005 en los campos testados.

El resultado de las analíticas de PCR cuantitativa para la determinación del porcentaje de transgénico acumulado en las mazorcas más próximas al rebrote dio niveles de polinización cruzada diferentes para cada parcela, con una

media de $0,37 \pm 0,11$ de OGM (Tabla 3). Las diferencias de contenido de transgénico entre los rebrotos de una misma parcela también serían significativas en términos estadísticos ($P < 0,05$). Esta gran variabilidad muestra la complejidad de los factores relacionados con la fertilización cruzada. Los factores más destacables son la cantidad y viabilidad del polen producido, la distancia del penacho a las sedas receptoras, la compatibilidad y la coincidencia en la floración entre el rebrote y la planta a polinizar. Además, hace falta tener en cuenta que los rebrotos pueden ser hemicigóticos o homocigóticos, por lo tanto la proporción de polen transgénico que producirán también será diferente.

Este trabajo de campo se ha hecho en una zona de coexistencia con parcelas transgénicas y convencionales de forma que el efecto de los rebrotos no se puede saber analizando el porcentaje de OGM de la cosecha. Pese a esto, el campo 3 es un claro ejemplo de fertilización cruzada debida solamente a los rebrotos, puesto que se encontraba aislado en una zona sin maíz Bt y rodeado por el río Ter y un bosque, que actuaban como barrera por el flujo genético (Figura 2).

De manera indirecta, el contenido total de transgénico en un campo convencional producido por los rebrotos transgénicos se puede estimar en función del número total de rebrotos que llegan a producir polen, de la polinización cruzada encontrada en las tres mazorcas más próximas y el número total de plantas sembradas por hectárea. Haciendo este cálculo, encontramos que, por ejemplo, para el campo 3 se estima un valor de 0,016% de contenido de transgénico. Para validar este dato, se tomaron muestras de la cosecha del campo y se analizaron, obteniendo un valor muy parecido. El peor caso posible, el campo 6, da un valor estimado de 0,16% de transgénico. Este valor está todavía muy lejos del umbral del 0,9% establecido por la UE, aunque haría falta tener en cuenta la contribución de los rebrotos en el contenido total de transgénico. Hace falta añadir, que los agricultores suelen trabajar el campo para eliminar rebrotos cuando encuen-

Campaña	Temperatura Media Diaria (°C)			Pluviometría total (mm)			Rebrotos/ha		
	Otoño	Invierno	Primavera	Otoño	Invierno	Primavera	Max	Media	n parcelas
2003-2004	13.7	8.4	14.8	403	207	320	1025	450 ± 289	3*
2004-2005	13.9	7.0	15.4	102	198	125	8728.3	2380 ± 901	12
2005-2006	12.6	7.4	16.1	350	120	50	2115	817 ± 442	4*
1993-2008	13.6	8.3	15.7	260	138	152			

Tabla 2. Temperatura media diaria y pluviometría total registradas desde el final de la siembra a la emergencia de los rebrotos. Los datos de los tres períodos y la media de los últimos quince años fueron registrados por la estación del MeteoCat en la misma zona. (*) Los datos de estas parcelas no se consideran en el estudio porque los rebrotos no provenían de parcelas transgénicas.



Figura 6. Penacho rudimentario de un rebrote. Al lado, plantas sembradas durante la campaña con un penacho normal.

tran densidades tan altas. La conclusión es, pues, que la densidad de rebrotes es variable y depende de muchos factores, como las condiciones climáticas en el invierno e inicios de primavera, las prácticas culturales aplicadas al campo, la distribución espacial de los rebrotes, y relacionado con esta última, su capacidad para llegar a producir polen. Aún así, se ha detectado un cierto grado de polinización cruzada que indica el contenido global de transgénico de forma moderada.

Los rebrotes no parecen un motivo suficiente por sí solos, para llegar al umbral de etiquetado del 0,9% establecido por las regulaciones europeas, sobre todo cuando se habla de densidades inferiores a 1.000 rebrotes/ha, pero no pueden ser subestimados cuando se encuentran en densidades muy altas. Con respecto a la problemática de la coexistencia, la importancia de los rebrotes es muy relativa, puesto que normalmente el propietario de la parcela es quien sembró transgénico el año anterior.

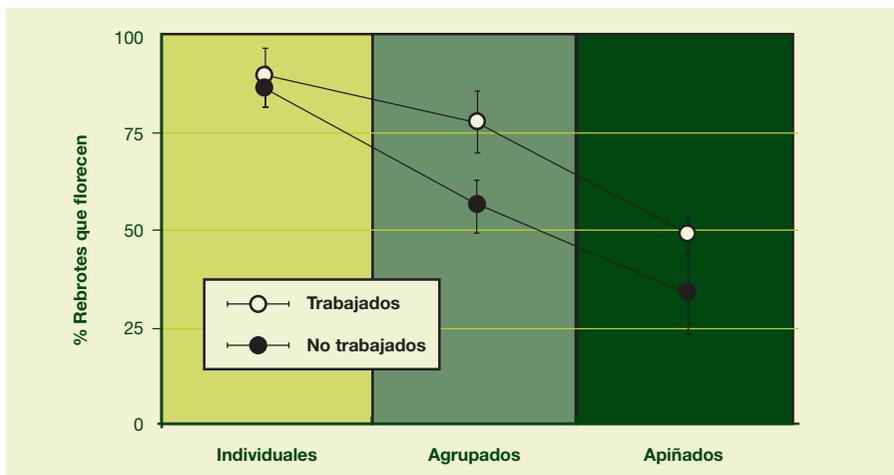


Figura 7. Porcentaje de rebrotes que producen polen en función de la densidad de rebrotes en los campos trabajados o no trabajados.

Agradecimientos:

Este trabajo se financió con los proyectos europeos SIGMEA Y COEXTRA.

04 Personal investigador de este ensayo



Montserrat Palaudermàs Carles
IRTA, Genética Vegetal, Cabrlis
montserrat.palaudermas@irta.es



Gisela Peñas Civit
IRTA Genética Vegetal, Cabrlis
gisela.penas@gmail.com



Enric Melé Grau
IRTA Genética Vegetal, Cabrlis
enric.mele@irta.cat



Joan Serra Gironella
IRTA, Mas Badia.
joan.serra@irta.cat



Jordi Salvia Fuentes
IRTA, Mas Badia.
jordi.salvia@irta.cat



María Pla de Solà-Morales
INTEA, Universidad de Girona
maria.pla@udg.es



Anna Nadal Matemala
INTEA, Universidad de Girona
anadal@intea.udg.es



Joaquina Messeguer Peypoch
IRTA Genética Vegetal, Cabrlis
joaquina.messeguer@irta.cat

Parcela	Método de riego	Rebrotes/ha después de trabajar ±se	Tasa de Floración (%)	Rebrotes con Flor (RF)/ha	%Polinización cruzada ± se
1	Gravedad	97.0 ± 96.9 †	89.5	86.75	
2	Gravedad	19.2 ± 14.4 †	89.5	17.18	
3	Pivot	7111.4 ± 949.0	49.4	3513.47	0.16 ± 0.29
4	Pivot	5886.3 ± 1349.4	53.5	3147.99	
5	Gravedad	126.6 ± 57.4 †	74.2	93.95	
6	Aspersión	8728.3 ± 1807.4	75.2	6568.01	0.89 ± 1.24
7	Aspersión	1600 ± 401.9	82.3	1316.74	
8	Gravedad	154.6 ± 42.2 †	66.1	102.20	0.34 ± 0.50
9	Gravedad	62.9 ± 59.2 †	78.7	49.52	
10	Gravedad	1504.7 ± 745.6 *	75.1	1129.42	0.30 ± 0.48
11	Gravedad	267.3 ± 267.3 *	53.5	142.96	
12	Gravedad	10.4 ± 7.1 †	89.5	9.34	

Tabla 3. Desarrollo de los rebrotes a lo largo del tiempo. Método de riego y densidad de rebrotes por hectárea estimada para cada parcela. Para parcelas con irrigación por gravedad, la densidad final fue calculada por observación visual(*) o considerando que el 70% del área total del campo que fue trabajada. Para las parcelas regadas por pivot o aspersión, el número de rebrotes observados inicialmente no se alteró. La tasa de floración indica el porcentaje de rebrotes que desarrollaron penachos, calculado por la media del porcentaje de plantas en floración y ponderando cada tipo por su frecuencia en la parcela. La columna de la polinización cruzada indica el porcentaje de transgénico obtenido de las tres mazorcas más próximas al rebrote transgénico.