## CONTROL DE DERIVA GÉNICA DESDE ALFALFAS OGMs A ALFALFAS CONVENCIONALES

## Ariel Odorizzi y Daniel Basigalup INTA Manfredi

Se denomina Organismo Genéticamente Modificado o Modificado Genéticamente (OGM u OMG) a aquel cuyo material genético ha sido alterado usando técnicas de ingeniería genética. La ingeniería genética permite modificar organismos mediante la transgénesis o la cisgénesis, es decir, la inserción de uno o varios genes en el genoma. Como organismos transgénicos se hace referencia a organismos a los cuales se les ha introducido uno o más genes foráneos (no propios de la especie) a través de la ingeniería genética o más específicamente a través de la transformación genética. Todos los transgénicos son OGMs, pero no todos los OGMs son transgénicos. El objetivo es ampliar o modificar la base genética de la especie mejorando su comportamiento o utilidad sin perder sus cualidades beneficiosas preexistentes.

A nivel global existe una gran adopción de los cultivos biotecnológicos. Según el Consejo Argentino para la Información y Desarrollo de la Biotecnología (ArgenBio), en 2019, 17 millones de agricultores de 29 países sembraron cultivos transgénicos en 190,4 millones de hectáreas. Entre los cultivos transgénicos sembrados en el mundo se encuentran: soja, maíz, algodón, canola, remolacha azucarera y alfalfa con tolerancia a herbicidas; maíz, algodón, berenjena y caña de azúcar resistentes a insectos (Bt); maíz, algodón y soja con tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos combinadas.

El 48% de las hectáreas sembradas con cultivos transgénicos en el mundo en 2019 correspondieron a soja, el 32% a maíz, el 14% a algodón y el 5% a canola. El 1% restante de la superficie sembrada con cultivos transgénicos en el mundo correspondió a variedades transgénicas de alfalfa, remolacha azucarera, caña de azúcar, papaya, cártamo, papa, berenjena, calabacín amarillo, manzana, ananá, clavel y rosa. Argentina ocupa el tercer puesto en superficie sembrada con OGMs con 24 millones de hectáreas y principalmente de los cultivos de soja, maíz, algodón y alfalfa.

Por lo mencionado anteriormente es evidente que los OGMs han llegado para quedarse y por lo tanto es importante desarrollar métodos de producción para cualquier mercado. Esto último hace referencia a aquellos mercados que acepten, que definan tolerancias o que rechacen a los OGMs. Por tal motivo ¿cómo pueden coexistir -existir al mismo tiempo que otros, sin anularse el uno al otro-, diversos sistemas, tanto convencionales como OGMs?. La respuesta esta en el manejo, la tolerancia y las buenas prácticas.

En Argentina y en alfalfa existen eventos utilizados legales -desregulados- e ilegales que impactan tanto en la producción de semilla convencional (no OGM) como en la exportación de heno de alfalfa. Por tal motivo, es imprescindible generar estrategias de coexistencia para discriminar y proteger a las alfalfas convencionales de la presencia indeseada de alfalfas

Genéticamente Modificadas (GM), tanto para producción de heno como de semillas. En el caso particular de heno, desde 2013 se viene presentando un incremento sostenido (mayor demanda de proteína de origen animal) de las exportaciones de heno de alfalfa debido a economías emergentes del Oriente Lejano con aumento de los ingresos y la consiguiente búsqueda de alimentos de mayor calidad y la imposibilidad de utilizar agua para riego en países árabes. Por lo mencionado, es importante atender a esa demanda creciente e insatisfecha.

La coexistencia de los sistemas, entendida como, "el cultivo simultáneo de cultivos convencionales, orgánicos, con identidad preservada y genéticamente modificados de acuerdo con las preferencias subyacentes de los consumidores y las elecciones de los agricultores" según el USDA (2012), es posible y todo se reduce a la tolerancia. La coexistencia en alfalfa es importante ya que algunos mercados de exportación, orgánicos y otros son sensibles OGMs, a algunos agricultores o mercados no les gustan los OGM y otros agricultores prefieren OGMs.

¿Cuál es la tolerancia para un nivel bajo de un evento en heno convencional?, algunos dirán cero, algunos mercados sensibles, otros no demasiado sensibles "Garantía verbal de no OGM", algunos mercados (China) requieren no detección "No detectado" mediante PCR. En todos los casos es necesario proteger la producción nacional de semilla de alfalfa convencional (no OGM) para garantizar pureza genética y preservar mercados no OGM de heno y otros productos.

Sí, se puede producir cero heno OGM, pero nadie puede garantizarlo ya que para asegurar "libre de OGM", cada gramo de material debería ser probado, sin dejar nada atrás; incluso problemas de laboratorio. "No OGM" es "no detectado" y debe definirse dentro de los límites de un método de muestreo y análisis o dentro de un protocolo definido. Debe haber un umbral de tolerancia. Por ende, la coexistencia de OGM y no OGM es definitivamente posible e importante para satisfacer la demanda del mercado. Los productores pueden producir heno no OGM incluso cerca del heno OGM o con presencia adventicia (que se desarrolla de forma extraña o fuera de su lugar habitual). Se deben definir los umbrales de tolerancia ya que la tolerancia cero no es analítica ni prácticamente posible; se debe utilizar una combinación de métodos de control de campo y pruebas para asegurar a los compradores el status de no OGM.

Entonces, ¿qué estrategia adoptar?, la respuesta sería, presencia adventicia o baja presencia entendida como una pequeña cantidad de evento no deseado en semillas o heno que puede ser importante o no según el productor o mercado.

La presencia indeseada de transgenes en una población convencional de alfalfa se puede dar básicamente por dos fenómenos: flujo génico mediado por polen o flujo génico mediado por semillas. Se define como flujo génico al intercambio de genes entre dos poblaciones.

Flujo génico por intercambio de polen: para que esto ocurra, debe obviamente concretarse la formación de semilla proveniente de la fecundación cruzada (alogamia) y el subsecuente establecimiento de las plántulas originadas por esas semillas. En el caso particular de la alfalfa, el flujo génico a través del polen depende de la distancia de aislamiento entre las dos poblaciones (es decir entre la alfalfa GM y la convencional), la frecuencia génica, la

sincronización de la floración entre las dos poblaciones, y la densidad y el tipo de polinizadores. Considerando los usos de la alfalfa (producción de semilla y producción de forraje, sea heno o pastoreo) y la presencia de plantas de alfalfa asilvestradas ("alfalfa feral"), se podrían dar nueve combinaciones entre la población fuente de polen y la población receptora de polen: 1) de heno/pastoreo a heno/pastoreo; 2) de heno/pastoreo a semilla; 3) de heno/pastoreo a feral; 4) de semilla a heno/pastoreo; 5) de semilla a semilla; 6) de semilla a feral; 7) de feral a heno/pastoreo; 8) de feral a semilla; y 9) de feral a feral.

En el trabajo titulado "Pollen-mediated Gene Flow in Alfalfa", Van Deynze et al. (2008) hacen una consideración detallada de las probabilidades de ocurrencia del intercambio génico en las seis situaciones que involucran lotes de producción comercial (heno o semilla), que podrían resumirse como sigue:

- De heno a heno: usualmente la probabilidad es muy baja porque deberían superarse una serie de barreras ambientales que incluyen el momento de corte (normalmente de botón floral a inicios de floración), la escasez de polinizadores, la remoción completa de la toda la biomasa aérea (que previene la formación de semillas) y la remota posibilidad que tiene una semilla de alfalfa formada en un lote de producción de heno de germinar, establecerse y contribuir significativamente a la producción de heno. El caso de los lotes de alfalfa en pastoreo puede incrementar la probabilidad de intercambio génico dado que los pastoreos se hacen a principios de floración (≥ 10-20%) o en estadios más avanzados (≥ 50%) para evitar el empaste. Además, el pastoreo normalmente no remueve toda la biomasa (eficiencias de uso del 50 al 75%).
- De semilla a heno: la situación tiene muchos puntos en común con la descripta anteriormente, si bien la presencia de plantas totalmente florecidas y la abundancia de polinizadores en un lote para semilla incrementan las probabilidades de ocurrencia. De todos modos, el manejo recomendado del esquema de cortes para heno (botón floral a inicios de floración) previene normalmente la formación de semilla en el lote para henificación.
- De alfalfa feral a heno: nuevamente, las barreras mencionadas en el primer caso (heno a heno) aplican en su mayoría en esta situación. Sin embargo, la probabilidad de ocurrencia es aún menor habida cuenta que las plantas ferales son normalmente muy escasas y de baja producción de polen (en comparación con plantas bajo cultivo). De todos modos, el manejo oportuno de los cortes en la población para heno disminuye notoriamente el riesgo. Complementariamente, el corte (para evitar la sincronía de floración) o la eliminación de las plantas ferales es una práctica recomendada.
- De heno a semilla: en este caso la probabilidad es algo mayor que en los casos anteriores debido a factores como el grado y la duración de la floración y la presencia de polinizadores en el lote para semilla. De todos modos, si el manejo de los cortes para heno y las normas de fiscalización de semilla se cumplen adecuadamente, la probabilidad de flujo génico es baja. Para disminuirla aún más, el uso de mayores distancias de aislamiento sería aconsejable. Por otro lado, y como se mencionara

- anteriormente para otras situaciones, la probabilidad de flujo génico se incrementaría en el caso de lotes para pastoreo.
- De feral a semilla: la probabilidad en este caso es muy baja, dependiendo de la ocurrencia, intensidad y duración de la floración en plantas ferales; de su sincronía con el lote de producción de semilla; de la distancia de aislamiento; y del tipo de polinizadores presentes. Normalmente, fuera de los lotes irrigados, la cantidad de plantas ferales de alfalfa es muy escasa.
- De semilla a semilla: es el escenario de mayor posibilidad de intercambio génico entre las dos poblaciones de alfalfa, dado que el manejo de los lotes está destinado a generar las máximas condiciones de polinización para la mayor producción de semilla posible. En este contexto, habrá sincronía de floración entre los dos lotes, abundante presencia de polinizadores y muy alta cantidad de semillas maduras. Por eso, para mitigar este natural flujo génico, se establecen en los regímenes de fiscalización las distancias mínimas de aislamiento que se deben observar a fin de mantener la pureza varietal. Para el caso de las alfalfas convencionales, las distancias establecidas (que en Argentina son 200 m para semilla básica, 100 m para primera multiplicación y 50 m para segunda multiplicación) se consideran suficientes para preservar la pureza genética dentro de parámetros razonables. No obstante, atendiendo a que las distancias de vuelo de los agentes polinizadores son significativamente distintas, esas distancias deberían revisarse. En al caso de la "abeja cortadora de hojas" (Megachile rotundata) se ha detectado flujo génica hasta una distancia cercana a los 600 m. Por el contrario, en el caso de la "abeja melífera" (Apis melífiera), se ha detectado que el flujo génico, si bien en muy baja proporción, es posible hasta una distancia cercana a los 5 km.

Flujo génico mediado por semillas: existen tres potenciales vías para generar flujo génico a través de semillas de alfalfa: 1) mezcla de lotes de semilla transgénica y convencional durante la cosecha de lotes, el proceso de limpieza y clasificación y/o el proceso de pelleteo (pildorado); 2) el establecimiento de plantas transgénicas voluntarias, provenientes del banco de semillas, en un lote de producción de semilla de alfalfa convencional que anteriormente haya sido usado con alfalfa transgénica; y 3) dispersión por animales que hayan pastoreado un lote de alfalfas transgénica con presencia de semillas maduras. De los tres casos anteriores, el primero es el de mayor probabilidad de ocurrencia. Por lo tanto, una cuidadosa limpieza de la maquinaria de cosecha y un riguroso control del sistema de procesamiento de semilla en todo momento, a fin de prevenir mezclas y/o detectar presencia adventicia de transgénicos, son elementos fundamentales para prevenir problemas. Por otro lado, la implantación de lotes de multiplicación de semillas convencionales debería hacerse con semilla que haya sido analizada y en la que no se haya detectado la presencia adventicia de semilla transgénica.

Una completa descripción de todos estos procedimientos se ofrece en "Best Management Practices for Adventitous Presence-Sensitive Alfalfa Seed Production" (2015).

A fin de evitar la presencia indeseada de semilla transgénica en lotes de semilla convencionales, se sugieren las siguientes medidas a tener en cuenta:

- Para la implantación de lotes convencionales, usar semilla de variedades en las que no se haya detectado presencia de transgénicos.
- Sembrar en lotes que no hayan tenido alfalfa (particularmente transgénica) al menos en las tres campañas anteriores.
- Cuidadosa limpieza de la maquinaria de siembra.
- Utilizar mayores distancias de aislamiento entre diferentes tipos de variedades (transgénicas y convencionales). Esto está relacionado con el tipo de polinizador predominante.
- Usar polinizadores de menor radio de vuelo, particularmente megachiles.
- Cosechar en forma diferente los bordes (más susceptibles de contaminación con polen que los sectores centrales).
- Coordinar con los vecinos para que no utilicen variedades transgénicas
- Relacionado con el punto anterior, otra posibilidad es declarar zonas "libres de transgénicos" para la multiplicación de semillas convencionales. Se sugiere consultar "Grower Opportunity Zones for Seed Production" (2015).
- Limpieza cuidadosa de toda la maquinaria de cosecha de semillas antes de entrar a cosechar los lotes.
- Monitoreo de cada lote de semilla que entra a la planta de procesamiento para la detección de presencia de transgénicos
- Control permanente de todo el proceso de limpieza y clasificación de semilla.

En función de todo lo anterior, y como punto de partida para diagramar posibles soluciones al problema de la presencia adventicia de transgénicos en lotes de semilla convencionales, se sugiere el siguiente grupo de medidas a ser consideradas:

- Conformar un paquete tecnológico de "buenas prácticas" para la producción de semilla convencional, incorporando los conceptos anteriormente enumerados (usar semilla con presencia de transgénicos no detectada, limpieza de maquinaria de siembra y cosecha, lotes sin antecedentes de transgénicos en los últimos tres años, limpieza, coordinación con vecinos que puedan usar tecnología transgénica aprobada, etc.)
- Definir **protocolos de muestreo** y **método/s de análisis** para determinar presencia de transgenes.
- Complementando lo anterior, establecer una **red de laboratorios** homologados para la detección de transgenes.

- Atentos a la dificultad práctica de generar partidas de semilla totalmente libres de presencia adventicia (PA) de transgénicos, se sugiere definir tolerancias de PA en lotes de semillas convencionales en toda la semilla comercial de categorías registrada y certificada y 0% para la implantación de lotes semilleros. Obviamente, y a semejanza del mercado internacional de heno de alfalfa, estas tolerancias podrán ser más o menos exigentes de acuerdo al destino de la producción. Si se trata de abastecer a mercados muy sensibles a la PA, los lotes de semilla deberán ser declarados de "presencia no detectada" (no "libres de" porque esa es un requisito imposible de cumplir en la práctica, dado que supondría analizar –y destruir- cada semilla individual). Para mercados menos exigentes, o que acepten la presencia de transgénicos, esas tolerancias podrían ser más laxas. Para más información, se sugiere consultar Putnam et al. (2016).
- Ampliar las **distancias de aislamiento** para disminuir significativamente las probabilidades de presencia de polen proveniente de lotes transgénicos que pudieran estar en las cercanías de los lotes semilleros convencionales. Esto también está en función del tipo de polinizadores que se empleen, habida cuenta de los significativamente diferentes radios de vuelo de la abeja melífera (hasta unos 5 Km) o del "megachile" (hasta unos 600 m). Ante la dificultad práctica de fijar aislamientos de ≥ 5 Km, se sugieren −en principio- distancias de alrededor de 2,5 Km para abejas melíferas y de 600 m para megachiles. También podría impactar en esto el valor de tolerancia de PA que se adopte, dado que para tolerancias mayores los aislamientos podrían ser menores y viceversa.
- Regular la obligatoriedad de que las plantas de pelleteo de semilla de alfalfa exijan para cada partida de semilla a ingresar una certificación de presencia de transgénicos no detectada o que, en caso de aceptarse los niveles de tolerancia de PA, se atengan a esos valores.
- Promover la discusión intersectorial de todos estos temas con otros organismos o
  instituciones pertinentes del ámbito público (SENASA, INTA, Dirección de
  Biotecnología y otras dependencias pertinentes de la Secretaria Agroindustria) y
  privado (CSBC, Asociaciones de Productores, y otras) y Gobiernos Provinciales.
- Avalar el levantamiento de la prohibición de importar Megachile rotundata a fin de favorecer no sólo el uso de menores distancias de aislamiento, sino también para aumentar los rendimientos de semilla de producción nacional, ya que esta especie es 10 a 20 veces más eficiente en el desenlace y la fecundación de flores que la abeja melífera.
- Promover el análisis de declaración de zonas "libres de transgénicos" para disminuir drásticamente las probabilidades de deriva génica. Atentos a la concentración de superficie dedicada a la multiplicación de semilla de alfalfa, una opción para este tipo de declaración podría ser el Valle Bonaerense del Río Colorado (VBRC-zona CORFO), que posee alrededor de 7.000 ha de lotes semilleros de alfalfa.

Por otro lado, considerando que el VBRC tiene una importante producción de miel, la declaración de zona libre de transgénicos podría también favorecer la exportación de los productos derivados de esta actividad. Obviamente, la declaración de "zona libre" debe tratarse a nivel de gobiernos provinciales y de los productores interesados. Existen antecedentes de cierta semejanza para este tipo de situaciones, como las normativas nacionales para preservación de color de catáfila en cebolla y para generación de papa semilla libre de virus.

## Referencias

National Alfalfa & Forage Alliance (NAFA). 2015. Best Management Practices for APS Alfalfa Seed Production. NAFA Coexistence Document, June, www.alfalfa-forage.org

National Alfalfa & Forage Alliance (NAFA). 2015. Grower Opportunity Zones for Seed Production. NAFA Coexistence Document, June, www.alfalfa-forage.org

Putnam, D. H., T. Woorward, P. Reisen and S. Orloff. 2016. Coexistence and Market Assurance for Production of Non-Genetically Engineered Alfalfa Hay and Forage in a Biotech Era. Crop Forage & Turfgrass Management, Volume 2, ASA-CSSA, Madison, WI, USA, DOI: 10.2134/cftm2015.0164

Van Deynze, A., S. Fitzpatrick, B. Hammon, M. McCaslin, S. H. Putnam, L. Teuber and S. Undersander. 2008. Gene Flow in Alfalfa: Biology, Mitigation, and Potential Impact on Production. Council for Agricultural Science & Technology, Special Publication No. 28, Ames, Iowa, USA, 30 p.