

FLUJO DE GENES DE CULTIVOS RESISTENTES A HERBICIDAS A MALEZAS EMPARENTADAS: EXPERIENCIAS CON EL ARROZ (*Oryza spp.*)

Bernal E. Valverde¹

Resumen

Las variedades de arroz resistentes a herbicidas (RH), transgénicas o producidas mediante mejoramiento convencional, comienzan a ingresar al mercado. El objetivo principal del arroz RH es permitir el control selectivo del arroz maleza (*Oryza spp.*) empleando herbicidas que de otra forma serían fitotóxicos al cultivo. El arroz RH también permite la eliminación de malezas difíciles de controlar y de aquellas que han evolucionado resistencia a herbicidas de diferente modo de acción y metabolismo a aquellos para los cuales se han desarrollado variedades resistentes. Sin embargo, existe preocupación por las consecuencias agronómicas y ecológicas que pueda tener el arroz RH, especialmente en relación con el flujo de genes e introgresión entre el arroz y sus parientes maleza y silvestres compatibles. A pesar de que el arroz predominantemente se autopoliniza, existe cierto grado de intercambio de genes con especies compatibles, incluyendo las formas maleza de *O. sativa* y los arrozales silvestres con genoma AA. Las tasas de flujo de genes tienden a ser bajas, de menos del 1%; el flujo de genes puede darse en ambas direcciones (del cultivo hacia la maleza o especie silvestre y vice-versa). En campos de arroz sembrados con arroz resistente a imidazolinonas por unas pocas estaciones ya se han detectado individuos de arroz maleza resistentes a estos herbicidas, producto del flujo de genes. De no establecerse medidas de contención y mitigación, el flujo de genes entre el arroz RH y sus parientes compatibles podría conducir al fracaso de esta tecnología y hasta a agravar los problemas de arroz maleza.

Abstract

Herbicide-resistant (HR) rice varieties both transgenic and conventionally-bred are now becoming commercially available. The main purpose of planting HR rice is to selectively control weedy rice (*Oryza spp.*) using herbicides that otherwise would be phytotoxic to the crop. Other hard-to-kill weeds as well as those that have evolved resistance to herbicides with differing modes of action and metabolism to those for which RH rice has been developed could also be controlled by in-crop applications of otherwise non-selective herbicides. But there is concern about the agronomic and ecological implications of cultivating HR rice, particularly in relation to gene flow and introgression between rice and compatible weedy and wild species. Although rice is predominantly self-pollinated, gene exchange with compatible species, including weedy *O. sativa* and wild rices of the AA genome, does occur. Typically, gene flow rates are low, usually less than 1% and gene flow occurs in both directions (from the crop to the weedy/wild relatives and vice-versa). Presence of imidazolinone-resistant weedy rice in fields planted during just a few seasons with imidazolinone-resistant rice varieties has been already documented. Unless proper containment and mitigation tactics are implemented, gene flow between HR rice and its compatible counterparts would bring about a failure of this technology and perhaps aggravate weedy rice problems.

Introducción

El arroz es el cultivo comestible más importante en el mundo; sin embargo la siembra de arroz transgénico, incluido el resistente a herbicidas, es muy limitada. Entre los factores que han limitado la liberación comercial de arroz transgénico está el posible flujo de (trans)genes a especies emparentadas compatibles y las preocupaciones acerca de la respuesta que puedan ofrecer el mercado y los consumidores. Las variedades de arroz resistente a herbicidas que se siembran comercialmente en varios países del continente americano, específicamente aquellas resistentes a herbicidas imidazolinonas no son transgénicas sino producidas por inducción de mutaciones y mejora

¹Royal Veterinary and Agricultural University, Dept of Agricultural Sciences, Weed Science, Agrovej 10, DK-2630 Taastrup, Denmark, bev@kvl.dk

genética convencional. Es este documento presento aspectos generales relacionados con el flujo de genes entre cultivos que poseen atributos novedosos y sus parientes cercanos, particularmente en relación con el arroz, así como sus implicaciones agronómicas.

Flujo de genes e introgresión

Los cultivos y las malezas provienen de plantas silvestres; los cultivos se han sometido por milenios a la selección de ciertas características como la autofertilidad, la eliminación del desgrane (caída de las semillas) y de la latencia, y cierto tipo de arquitectura de la planta al punto de que los cultivos se tornaron muy dependientes de la intervención de los humanos para su establecimiento y propagación (Warwick & Stewart 2005 ofrecen una excelente revisión de este tema). Por este motivo, no es de sorprenderse que muchos cultivos, especialmente aquellos que existen como un complejo cultivo-maleza-forma silvestre, como en el caso del arroz, puedan intercambiar genes cuando son simpátricos en condiciones apropiadas (cuando hay traslape de los períodos de floración y presencia de polinizadores si son necesarios). Warwick & Stewart (2005) mencionan los cultivos comestibles más importantes en el mundo y sus malezas emparentadas que son sexualmente compatibles y económicamente importantes. Cinco de los 25 cultivos comestibles más sembrados (arroz, canola, caña de azúcar, avena y sorgo) poseen malezas emparentadas con las que pueden cruzarse de entre las 180 malezas que causan el 90% de daño mundialmente. Los efectos ecológicos de los cultivos transgénicos y del escape de transgenes a poblaciones silvestres y de malezas han sido objeto de varias revisiones y libros (Dale et al. 2002, Ellstrand 2003, Gressel 2002, Keeler et al. 1996, Pilson & Prendeville 2004, Stewart 2004, Wolfenbarger & Phifer 2000), incluidas algunas en relación con el arroz (Gealy 2005, Lu & Snow 2005, Lu et al. 2003, Olofsson et al. 2000).

El arroz cultivado y sus especies emparentadas

Vaughan et al. (2005a) describen el estatus taxonómico de las especies de *Oryza*, algunas de las cuales son malezas en campos de arroz en varias localidades. Existen 23 especies y nueve genomas identificados en el género *Oryza*. El complejo *O. sativa* contiene siete especies, todas diploides que comparten el genoma AA. Entre estas especies se pueden producir híbridos sin necesidad de rescate de embriones; algunos ocurren naturalmente.

La especie más documentada de arroz maleza es justamente *O. sativa*. Las especies silvestres de arroz, particularmente *O. rufipogon*, el ancestro inmediato del arroz cultivado (*O. sativa*) son también malezas del arroz sobre todo en Asia (Holm et al. 1997, Song et al. 2003, Vaughan et al. 2005a). Las poblaciones de plantas similares a *O. rufipogon* que invaden los campos de arroz son por lo general formas con introgresión de genes provenientes del arroz cultivado y que se asocian íntimamente con el cultivo. Este tipo de arroz maleza se ha documentado en América (Lentini & Espinoza 2005, Peña-Deyán & Ortiz 2001, Sánchez-Olguín 2001, Vaughan & Morishima 2003, Vaughan & Tomooka 1999, Vaughan et al. 2001, B. Valverde, E. Skov y S. Andersen, datos sin publicar) y en Australia (Vaughan & Morishima 2003). La importancia del arroz maleza aumenta también en Europa (Vidotto & Ferrero 2005).

En partes de África occidental, donde se cultiva *O. glaberrima*, su ancestro *O. barthii* se ha convertido en un arroz maleza importante, especialmente en arroz de siembra directa (Davies 1984, Johnson 1997). *O. longistaminata* también es maleza en arroz en África (Johnson et al. 2004); esta especie se hibrida con *O. sativa* (Vaughan & Morishima 2003) y con la forma diploide de *O. punctata* (Johnson et al. 2000, Vaughan & Morishima 2003). *O. officinalis* (genoma CC) es maleza del arroz en Filipinas (Vaughan et al. 2005a). En América Central, la especie nativa tetraploide (CCDD), *O. latifolia* es maleza de importancia económica en algunos campos de arroz (Valverde 2005). *O. glumaepatula* (genoma CC), también nativa de América Latina, tiene el potencial de volverse maleza en campos de arroz (Lentini & Espinoza 2005, Morishima 2001).

Flujo de genes e introgresión

Los genes, incluidos los transgenes que codifican nuevos atributos, se diseminan por el polen o la dispersión de semillas a otras poblaciones del cultivo o a malezas y plantas silvestres compatibles. El flujo de genes mediante el polen requiere de proximidad y traslape en floración entre las plantas en interacción. Para la polinización cruzada se requiere que la planta donante produzca polen viable que sobreviva por un período lo suficientemente largo para interactuar con los estigmas de la planta receptora. A pesar de que hay barreras naturales que minimizan la polinización cruzada

en el arroz, el flujo de genes ocurre en el campo. Las flores del arroz abren por un corto período que limita el tiempo para la fertilización. El polen es viable por solo unos minutos una vez expuesto al ambiente externo. El estigma es más tolerante al estrés ambiental y permanece viable por varios días, permitiendo su fertilización por polen foráneo (Gealy et al. 2003).

Mediante el empleo de trampas de polen, Song et al. (2004a) estudiaron los patrones de dispersión vertical y horizontal del polen del arroz. La dispersión disminuyó conforme aumentó la distancia desde la fuente de polen y estuvo influida por la dirección y velocidad del viento. El polen viajó 38 m cuando la velocidad del viento fue de $2,5 \text{ m s}^{-1}$. Un número mayor de granos de polen se detectó a una altura de 1,0 a 1,5 m que a 2,0 m, lo que indica que el polen del arroz se disemina a alturas relativamente bajas.

Varios genes de resistencia a herbicidas (RH) han sido incorporados al arroz mediante transformación genética. Ellos incluyen los que confieren resistencia al glufosinato de amonio y al glifosato, los cuales son los de mayor importancia comercial. También se han introducido genes de resistencia a herbicidas que inhiben la protoporfirinógeno oxidasa (Jung & Back 2005) e incluso varios genes humanos que permiten la detoxificación de herbicidas de diversas familias mediante monooxigenasas P450 (Kawahigashi et al. 2005). Los genes de RH son muy útiles como marcadores del flujo de genes. Los genes de RH que han sido incorporados a las variedades de arroz también pueden escapar mediante plantas espontáneas (arroz voluntario) provenientes de la semilla que cae al suelo antes y durante la cosecha del grano. Las pérdidas por caída de granos de arroz ascienden a unos 35 y 40-75 kg ha^{-1} con cosechadoras de cabezal tipo "stripper" y convencionales, respectivamente, cantidad suficiente como para sembrar un tercio de hectárea. En sistemas de monocultivo, las plantas espontáneas de arroz RH que emergen con variedades convencionales en "rotación" pueden tener una oportunidad adicional de cruzarse con la variedad convencional y con las poblaciones de arroz maleza asociadas con el cultivo. Las semillas transgénicas también podrían establecerse localmente como poblaciones transgénicas ferales (parcialmente de-domesticadas) persistentes o pueden ser transportadas a largas distancias por el equipo agrícola y camiones de transporte de grano. Este tema es ampliamente discutido en relación con varios cultivos, incluido el arroz, en una publicación reciente (Gressel 2005). Las poblaciones transgénicas ferales también pueden servir como fuentes o de puente para el flujo de transgenes a parientes silvestres (Claessen et al. 2005b).

Movimiento de transgenes del arroz transgénico a otras variedades de arroz

El arroz es predominantemente autopolinizado y clesistógamo pero la polinización cruzada ocurre aunque sea a tasas muy bajas, típicamente inferiores al 1% (Cuadro 1). Estudios recientes con arroz resistente a glufosinato realizados en los EE.UU. confirmaron un limitado flujo de genes entre variedades transgénicas y convencionales. Mediante un diseño de parcela central constituida en un 90% por arroz transgénico y 10% de convencional se encontró una tasa de cruzamiento del 0,08% cuando las dos variedades estaban entremezcladas. Se detectaron híbridos sólo entre plantas adyacentes, ninguno a distancias mayores dentro de los 21 m desde la fuente de polen que abarcó el estudio. En otro experimento, realizado en California, la tasa máxima de cruzamiento fue de 0,4% y no se encontraron híbridos más allá de 1,8 m de la fuente de polen (Cuadro 1). La tasa de flujo de transgenes por medio de polen de arroz *japonica* resistente a glufosinato a otra variedad *japonica* convencional fue de 0,1% y 0,01% para plantas que crecían a 1 y 5 m de distancia de la fuente transgénica, respectivamente (Messeguer et al. 2001). En un experimento similar, el flujo de genes promedió 0,09% (Messeguer et al. 2004). En ambos casos en viento influyó en la frecuencia de polinización.

Aunque el flujo de genes entre plantas cultivadas se considera un problema de poca importancia ecológica, sí lo es de importancia agronómica. La polinización cruzada de variedades convencionales de arroz para la producción de semilla certificada puede conducir a su disposición como grano en lugar de semilla. En la producción de semilla certificada hay tolerancias estrictas para la presencia de arroz maleza y, aunque menos estrictas, para la contaminación varietal. En California, por ejemplo, la semilla de arroz certificada debe estar exenta de arroz rojo pero se permite un máximo de nueve semillas de otros cultivos u otras variedades de arroz por kilogramo. Adicionalmente, de acuerdo con la Ley de Certificación del Arroz del 2000, la mezcla de semilla de arroz convencional con transgénica cae en una categoría denominada "con características de impacto comercial" lo que significa que puede afectar adversamente la comercialización del arroz. La

presencia de arroz transgénico en arroz orgánico puede provocar la denegación de la certificación orgánica del grano y pérdida de su valor comercial.

Hay dos circunstancias adicionales en las que el movimiento de transgenes entre cultivares es importante. Genes del cultivo transgénico pueden incorporarse en las variedades criollas, especialmente en los centros de origen y diversidad del cultivo. Una gran controversia se desató cuando se informó que variedades criollas de maíz en México contenían transgenes (Quist & Chapela 2001), hecho que se interpretó como un atentado contra los recursos genéticos tradicionales y la biodiversidad. Posteriormente este informe se consideró erróneo debido a deficiencias metodológicas sistemáticas (Editorial Note 2002); un estudio reciente también descartó la presencia de transgenes en las variedades criollas (Ortiz-García et al. 2005). Se estima que el 29% del área de arroz en Asia se siembra con variedades criollas. En algunos países, especialmente aquellos en que el arroz se cultiva bajo la modalidad de secano favorecido, los agricultores todavía siembran variedades tradicionales en una proporción significativa (Hossain et al. 2003). Los agricultores sustituyen la siembra de este tipo de variedades por variedades mejoradas para tomar ventaja de nuevas oportunidades en el cambiante ambiente de siembra del arroz y para obtener mejores rendimientos (Bellon 2004) lo cual podría conducir a que las variedades criollas en abandono se tornen ferales y se conviertan en maleza. Las plantas espontáneas de la variedad criolla pueden pasar sin detección debido a que el agricultor no las identifica como maleza o a través del banco de semilla cuando los campos se abandonan (Valverde 2005). En estas circunstancias, si la variedad criolla había adquirido genes de RH podría convertirse en un arroz maleza RH.

La otra circunstancia en que el flujo de transgenes entre plantas cultivadas es importante es en la producción de arroz híbrido. En este caso, la mayor preocupación es el movimiento de transgenes a las líneas andro-estériles empleadas en la producción de híbridos (Jia & Peng 2002). Las líneas andro-estériles se seleccionan por su estigma elongado para mejorar la producción de semilla híbrida y por lo tanto tienen una tasa superior de cruzamiento que los cultivares regulares, las líneas restauradoras y los mismos híbridos. El movimiento del gene *bar* (que confiere resistencia al glufosinato) del arroz transgénico a líneas andro estériles *indica* o *japonica* creciendo conjuntamente en un experimento de campo fue 56% y 67%, respectivamente, comparado con 4% y menos del 2% en las mismas líneas de mantenimiento, respectivamente (Jia 2002).

En la siembra comercial de arroz híbrido se presenta otra situación. Algunos agricultores en China siembran variedades tradicionales en asocio con híbridos altamente rendidores con el fin de reducir enfermedades y mejorar el rendimiento de las variedades tradicionales (Zhu et al. 2000), condición en la que preocupa que el intercambio de genes tenga como consecuencia la degeneración de las variedades tradicionales. Sin embargo, se detectó un flujo de genes muy limitado entre arroz híbrido asociado con una variedad tradicional en condiciones experimentales (Rong et al. 2004). Aunque el flujo de genes del arroz híbrido a la variedad tradicional fue cinco veces mayor que lo opuesto, el flujo de genes nunca superó el 1%. Si la presión de selección para el atributo transgénico es alta, el transgene se establecerá rápidamente en la población. En los EE.UU y en Brasil se comercializa arroz híbrido no transgénico, resistente a imidazolinonas (IMI) pero a la fecha no se ha publicado trabajo alguno que caracterice el flujo de genes de estos híbridos a otras variedades o al arroz maleza.

Cuadro 1. Tasas estimadas de cruzamiento entre arroz cultivado, maleza y silvestre (*Oryza* spp.) según estudios selectos de flujo de genes.

País	Tasa estimada de cruzamiento	Detalles del estudio	Referencias
De cultivo a cultivo (ambos <i>O. sativa</i>)			
EE.UU.	0,08% cuando las dos variedades se sembraron entremezcladas. No se encontraron híbridos fuera de la parcela central	Parcela central con 90% de ARG ¹ y 10% de arroz convencional rodeado de arroz convencional	Estudios realizados por S. Linscombe (Louisiana Sta. Univ.) y S. Pinson (USDA ARS, Beaumont, Texas). D. Mitten (Bayer Crop Science, Woodland, California). 2005. Comunic. Pers
EE.UU.	Tasa Máxima: 0,4%	Parcela central de ARG como donante rodeada de variedad convencional. No se encontraron híbridos más allá de 1,8 m	D. Cheetham ² . A. J. Fischer (Univ. California Davis) y D. Mitten. 2005. Comunic. Pers.
China	56% a 67% a líneas andro-estériles y 2% a 4% a líneas restauradoras.	Siembra de ARG al lado de líneas andro-estériles o restauradoras	Jia 2002
China	< 1% del arroz híbrido a la variedad tradicional	Siembra de variedad tradicional e híbrido en mezcla	Rong et al. 2004
España e Italia	0,01% a 0,1% dependiendo de la distancia	Diseños de campo circulares con núcleo de ARG rodeado de variedad convencional	Messeguer et al. 2001, 2004
Cultivo a arroz maleza			
Brasil	0,14% a 0,26% dependiendo del tipo de arroz maleza	Parcelas de 1-m ² de ARG con parcelas de arroz maleza (dos biotipos) de área similar a cada lado	Noldin et al. 2002
EE.UU.	1% a 52% dependiendo de la variedad	Jardín de variedades y arroz maleza	Langevin et al. 1990
Corea	0,01% a 0,05%	Mezcla de ARG y arroz maleza	Chen et al. 2004
España	0,04%	Diseños de campo circulares con núcleo de ARG	Messeguer et al. 2004
Costa Rica	0,2% a 3,8% usando variedad marcadora y 0,1% a 0,4% con ARG	Densidades variables de variedad marcadora (coloración antociánica en la base) o variedad de ARG y arroces maleza	Lentini & Espinoza 2005
Colombia	0,03% a 0,3%	ARG con infestación de un 20% de arroz maleza	Lentini & Espinoza 2005
EEUU	De menos de 0,01% a 0,14%	Siembra en hileras y estudio de descendientes de plantas que sobrevivieron la aplicación de herbicidas IMI en el campo, y diseños circulares	Burgos et al. 2005, Estorninos et al. 2003 ^a , 2003 ^b

Cuadro 1. Tasas estimadas de cruzamiento entre arroz cultivado, maleza y silvestre (*Oryza* spp.) según estudios selectos de flujo de genes (cont.).

País	Tasa estimada de cruzamiento	Detalles del estudio	Referencias
De arroz maleza a cultivo			
Brasil	0,02% a 0,22% según tipo de arroz maleza	Parcelas de 1-m ² de ARG con parcelas de arroz maleza (dos biotipos) de área similar a cada lado	Noldin et al. 2002
EE.UU	0,10% a 0,23% dependiendo de la variedad	Siembra en hileras de arroz IMI y arroz maleza	Estorninos et al. 2003b
Arroz cultivado a silvestre			
China	1,2% a 2,2%	Hileras alternas de ARG y <i>O. rufipogon</i>	Chen et al. 2004
China	1,5% a 3,0% según diseño y distancia del donante. Híbridos detectados a la distancia máxima de 43 m.	Cuatro diseños incluidos dos arreglos circulares, hileras alternas y arreglo unidireccional. Como donante se usó una variedad convencional y como receptor a <i>O. rufipogon</i>	Song et al. 2003

¹ ARG: arroz resistente a glufosinato; IMI: resistente a imidazolinonas.

² Cheetham, D. 2004. Outcrossing study between transgenic herbicide-resistant rice and non-transgenic rice in California. Thesis. University of California-Davis, 91 pp.

Flujo de genes entre arroz resistente a herbicidas y arroz maleza

El principal propósito de la introducción del arroz RH es el control selectivo del arroz maleza, el cual, por ser congénere o conespecífico con el cultivo no se puede controlar eficazmente con herbicidas convencionales sin retrasar la siembra, con la concomitante pérdida potencial de rendimiento debido al acortamiento de la estación de cultivo. Por lo tanto, la introgresión de genes de resistencia en el arroz maleza da al traste con esta tecnología. Aunque el arroz cultivado y posiblemente también el arroz maleza es primordialmente autógeno, la literatura antigua (Beachell et al. 1938), las publicaciones recientes de trabajos hechos con variedades transgénicas y las observaciones de campo, todas apuntan a la existencia de cruzamiento e introgresión.

El trabajo de Langevin et al. (1990) ha sido ampliamente citado en la literatura reciente sobre flujo de genes en arroz. En este estudio semilla de arroz maleza recolectada de plantas asociadas con seis cultivares de arroz se sembró en una parcela común. Las plantas híbridas que emergieron se confirmaron mediante comparación morfológica y por patrones de isoenzimas. Se obtuvieron híbridos con todos los cultivares. Aquellas plantas confirmadas como híbridos mostraron heterosis, crecieron más alto y fueron más robustas que cualquiera de los progenitores, excepto aquellos originados del cultivar Nortai. La hibridación varió entre 1% y 52%, esta última se observó con Nortai que es de maduración tardía y que coincidió en floración con el arroz maleza. Se postuló que los híbridos con este cultivar posiblemente correspondían a híbridos formados con antelación (puesto que la semilla se recolectó en parcelas donde el cultivo y la maleza interactuaron por tres ciclos de cultivo) que ya habían sufrido retrocruzamiento.

Estudios recientes, revisados por Gealy (2005) concluyen que la hibridación entre arroz cultivado y maleza se da a tasas más bajas que las informadas por Langevin et al. (1990), comúnmente son de 1% o menos. La determinación del flujo de genes por lo general se realiza sembrando un núcleo de plantas donantes de polen (la variedad con la característica de interés) y detectando la presencia de híbridos a varias distancias y direcciones de la fuente. En otros casos, el arroz maleza se siembra en mezcla con la variedad RH de interés. Los híbridos se identifican inicialmente por su resistencia al herbicida pero es necesaria la corroboración por otros medios. Los microsatélites y otros marcadores genéticos se han empleado para distinguir entre arroz cultivado, arroz maleza y sus híbridos (Burgos et al. 2005, Gealy et al. 2002, Lentini & Espinoza 2005, Zhang et al. 2003).

Debido a las restricciones para la liberación de variedades transgénicas, la mayoría de estos experimentos se ubican en campos donde el arroz normalmente no se siembra, lejos de arrozales comerciales y empleando un único biotipo de arroz maleza recolectado en un sitio diferente. Para propiciar la hibridación, las fechas de siembra se ajustan para sincronizar la floración o se incluyen biotipos que tienen un ciclo de vida similar al de la variedad seleccionada. En los campos de arroz, sin embargo, como es común en América Latina, muchos biotipos morfológicamente distintos se asocian con el cultivo, asociación que en muchos casos ha ocurrido por años. El resultado es la presencia de poblaciones de arroz maleza muy variables, con individuos que se asemejan a las variedades con las que crecen no sólo fenotípicamente sino genéticamente (Federici et al. 2001, Lentini & Espinoza 2005, Skov et al. datos no publicados, Valverde 2005). Con frecuencia el mimetismo es tal que los agricultores describen a los arroces maleza como "varietales" puesto que son extremadamente difíciles de diferenciar excepto por su propensión al desgrane, cuando ya es demasiado tarde (Valverde 2005). En estas circunstancias, donde ya han ocurrido grados diversos de introgresión, se podría esperar que la hibridación del arroz maleza con variedades novedosas ocurra más rápidamente y en mayor frecuencia.

La presencia de híbridos putativos entre arroz maleza tipo *indica* (105 días para maduración) y arroz IMI (*japonica* tropical de 90 días a cosecha) tan solo después de dos siembras sucesivas del arroz RH en Costa Rica sugiere que si no hay medidas adecuadas de contención y manejo, las poblaciones de arroz maleza RH incrementarán rápidamente, sobre todo si se acumula un banco de semillas en el suelo. Langevin et al (1990) indicaron que la presencia de un amplio ámbito de épocas de floración en el arroz maleza asegura que los híbridos se producirán tanto con variedades precoces como con las de maduración tardía.

El flujo de genes por polinización de acuerdo con estudios recientes realizados en varios países con arroz resistente a glufosinato como planta donante confirma que las tasas de cruzamiento son inferiores a 1% (Chen et al. 2004, Messeguer et al. 2004, Noldin et al. 2002) aunque se han documentado tasas mayores. En estudios de campo en Costa Rica, se permitió la hibridación de una variedad comercial de referencia (Setesa 9) que posee culmos antociánicos y una variedad de arroz *indica* resistente a glufosinato, transformada localmente, con el arroz maleza. La hibridación entre

Setesa 9 y dos biotipos de arroz maleza incluidos en el estudio fue inferior al 3,8% y varió levemente según el biotipo de arroz maleza y su densidad de siembra. Los híbridos se confirmaron fenotípicamente y mediante análisis por microsatélites. La hibridación entre la variedad de arroz transgénico y seis biotipos de arroz maleza varió entre 0,1 % y 0,4%, siendo más común con biotipos de arroz maleza tipo *indica* que con biotipos semejantes a *O. rufipogon*. En Colombia también se obtuvieron resultados similares (Lentini & Espinoza 2005).

El arroz resistente a glufosinato fue aprobado por las autoridades reguladoras de los EE.UU. en 1999 (USDA-APHIS 1999) pero todavía no está disponible comercialmente. Su liberación comercial se ha pospuesto en varias ocasiones pero se anticipa que será comercializado en 2007 (Mitten, D., 2005, Bayer Crop Science, California, USA, comunicación personal). Aunque estudios recientes demostraron beneficios económicos y ambientales del uso de arroz resistente a glufosinato en California (Bond et al. 2004), las variedades resistentes no se han comercializado y muchos agricultores están preocupados acerca del impacto de dichas variedades en el mercado de exportación, principalmente el japonés. Las preocupaciones acerca de la comercialización internacional del arroz transgénico pueden variar dramáticamente si dichas variedades se autorizan en Asia, especialmente en China e India. En China se han desarrollado y están en prueba variedades transgénicas de arroz resistentes a enfermedades, insectos y herbicidas, incluidos el glifosato y glufosinato, y con otros atributos como tolerancia a la sequía y a la salinidad (Jia 2002, 2004, Jia & Peng 2002). La aprobación del arroz transgénico en China probablemente se facilitará luego de que se dieron a conocer beneficios sustanciales en términos de reducción de uso de plaguicidas y disminución de efectos negativos a la salud entre agricultores que sembraron arroz transgénico resistente a insectos en campos de producción semi-comercial (Huang et al. 2005). Hay informes de siembra ilegal de arroz transgénico resistente a insectos en China (Zi 2005). La Academia Nacional de Ciencias Agrícolas de India afirma que no existen razones ambientales científicamente válidas o impacto ecológico negativo en relación con la liberación de variedades de arroz transgénicas en los centros de origen y diversidad (Chopra et al. 2005).

Los resultados experimentales de flujo de genes entre arroz IMI y arroz maleza coinciden con los obtenidos con arroz resistente a glufosinato, con tasas de cruzamiento inferiores al 1% (Burgos et al. 2005, Estorninos et al. 2003a, 2003b). Por ejemplo, en un estudio de campo con un diseño circular se detectó cruzamiento a baja frecuencia hasta 6,5 m de la fuente de polen de arroz IMI (máxima distancia permitida por el diseño experimental) independientemente de la dirección del viento (Burgos et al. 2005). La información más interesante, reveladora y relevante acerca de la hibridación entre arroz RH y arroz maleza proviene de la producción comercial de arroz IMI o de experimentos que se asemejan a las situaciones comerciales. En EE.UU y Latinoamérica se comercializan algunas variedades e híbridos IMI. Híbridos putativos de arroz maleza se encontraron en un campo en Costa Rica sembrado sucesivamente con arroz IMI (dos ciclos de cultivo en un año) y luego rotado a una variedad convencional de acuerdo con las recomendaciones del programa de custodia del arroz IMI. El arroz convencional se infestó severamente con arroz maleza posiblemente porque el banco de semillas del suelo no se agotó con los cultivos IMI. Al momento de la cosecha, después de una búsqueda meticulosa, encontré unas pocas plantas que aparentaban ser híbridos entre el arroz IMI y el maleza. De manera similar a los EE.UU. el arroz maleza en América tropical es predominantemente tipo *indica*. En Costa Rica, el arroz IMI (cv CFX-18) es precoz y, por ser de tipo *japonica* posee hojas lisas (glabras). Esta característica se emplea para diferenciar a CFX-18 de otras variedades y del arroz maleza que poseen hojas ásperas (vellosas). Los supuestos híbridos eran plantas altas, similares a los biotipos locales de arroz maleza, pero con hojas lisas; algunos presentaban grano con pericarpio rojo, otros con pericarpio blanco. Los descendientes de estas plantas resistieron al imazapir en dosis altas de forma similar al arroz IMI (Figura 1). Después de que el arroz convencional se cosechó, el agricultor decidió sembrar una vez más arroz IMI. Al momento de la cosecha una nueva búsqueda de supuestos híbridos me permitió recolectar una muestra mayor de plantas sobrevivientes. Las descendencias de estas plantas están en escrutinio; la mayoría exhiben resistencia al imazapir. Las plantas también están siendo caracterizadas genéticamente para verificar que efectivamente son híbridos. Algunos descendientes de los supuestos híbridos son plantas muy altas (crecen hasta 2 m en el invernadero), poseen hojas lisas (una característica recesiva) y maduran tarde pero producen poca semilla (la mayoría de las semillas en la panícula están vanas).

En una reciente caracterización genética de híbridos entre arroz IMI y arroz maleza se determinó que los híbridos poseían una enzima ALS idéntica a la del arroz IMI, lo que aunado a otras características de las plantas confirmó el flujo de genes de RH del arroz IMI al maleza (Rajguru et al. 2005). Con frecuencia los individuos F₁ que resultan de la hibridación de progenitores disímiles son estériles y pocas poblaciones logran persistir a no ser que se retrocruzan con sus progenitores o que

sean capaces de reproducirse en forma vegetativa (Raybould & Grey 1993). Los híbridos entre arroz *japonica* resistente a glufosinato y arroz maleza tipo *indica* mostraron una alta infertilidad (Zhang et al. 2003); la misma situación se presenta en híbridos entre arroz IMI y arroz maleza (Burgos et al. 2005, Gealy et al. 2002).

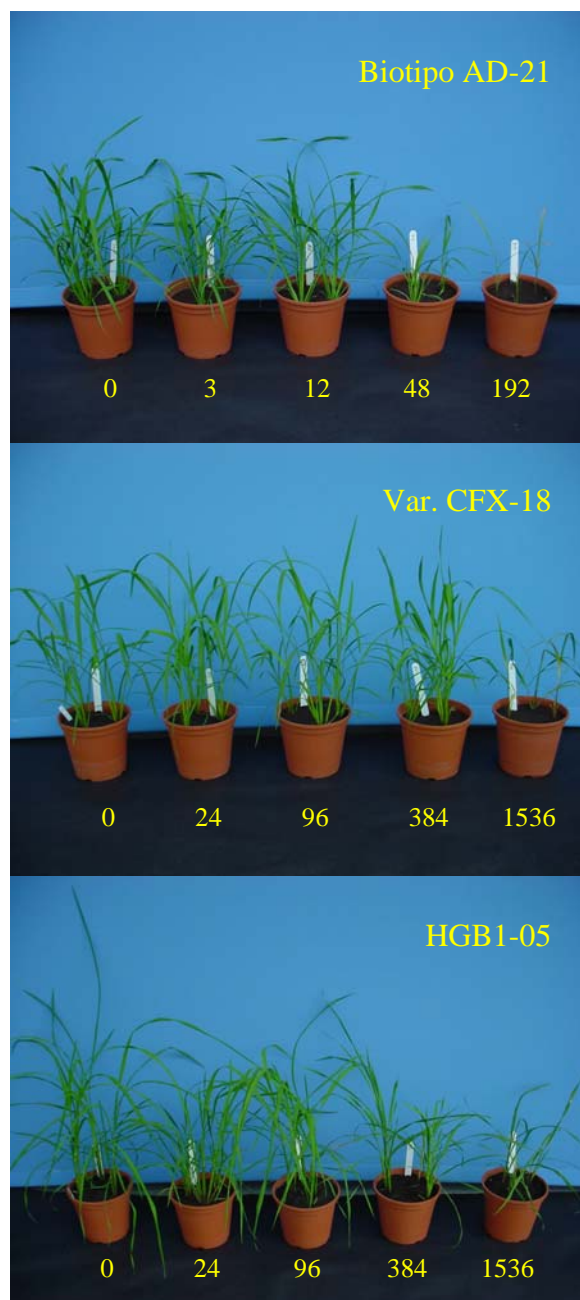


Figura 1. Respuesta de dos biotipos de arroz maleza (*O. sativa*) y de una variedad resistente a imidazolinonas a dosis crecientes de imazapir. El biotipo AD-21 es susceptible al herbicida. HGB1-05 es un híbrido putativo de arroz maleza x arroz cultivado resistente a herbicidas imidazolinonas (CFX-18) recolectado en un campo comercial de arroz en Costa Rica. Las dosis de imazapir están indicadas en gramos de equivalente ácido ha^{-1} . Note que el ámbito de dosis es diferente para el biotipo susceptible. (Valverde, B. E. 2005. Datos no publicados).

Con base en un modelo preliminar, se predijo que en condiciones de arroz de secano favorecido en Costa Rica, el arroz resistente a herbicidas se tornaría problemático (empleando un umbral de 30% de resistencia con base en biomasa) después de tres o cuatro ciclos de cultivo cuando se ejercía un control limitado en el período comprendido entre la cosecha y la siembra subsiguiente (Madsen et al 2002). La experiencia adquirida recientemente en el campo parece no sólo confirmar las predicciones sino indicar que las poblaciones resistentes podrían incrementarse más rápidamente debido a la ausencia de prácticas asumidas por el modelo (ej. algunas labores, un período de descanso, y control

de arroz espontáneo y maleza con glifosato previo a la siembra). Nuestro modelo se encuentra en proceso de refinamiento.

Cuando se encuentran posibles híbridos en el campo, las características morfológicas no permiten determinar si se trata de híbridos de primera generación o de descendientes que provienen de autofecundación o de retrocruzamiento con los progenitores originales. Arroz IMI que floreció simultáneamente y se cruzó con arroz maleza permaneció en el campo hasta el desgrane natural. En la población que emergió de la semilla caída y que sobrevivió la aplicación de herbicidas imidazolinonas se encontraron las ocho combinaciones posibles de hojas verdes oscuras y claras, ásperas y lisas, erectas y caedizas, aunque dos tercios tenían las hojas verde claro y ásperas típicas del arroz maleza (Shivrain et al. 2003). La segregación de estas características también fue notoria en plantas provenientes de sobrevivientes que tenían hojas claras, ásperas y caedizas. Supuestos híbridos entre cultivares de arroz IMI y arroz maleza de varias localidades de Arkansas (EE.UU.) se separaron en cruces de primera generación y productos con varios grados de autopolinización mediante 17 microsátélites (Gealy et al. 2005). La segregación de hojas pubescentes y glabras también se ha observado en plantas provenientes de híbridos entre arroz *japonica* resistente a glufosinato y arroz maleza (Orad et al. 2000). La resistencia a glufosinato y la hoja pubescente están controladas y se heredan independientemente por genes individuales dominantes (Sankula et al., 1998; Zhang et al. 2003).

En América Latina se están introduciendo variedades de arroz IMI mejor adaptadas desarrolladas a partir de variedades convencionales sembradas ampliamente. Esta nueva generación de variedades *indica* (no *japonica*) pronto dominarán el mercado de arroz IMI en la región. Las poblaciones de arroz maleza se han asociado con este tipo de variedades por décadas y han intercambiado genes durante mucho tiempo. Se podría entonces esperar que se presenten tasas mayores de flujo de genes y de introgresión con las nuevas variedades por estar más relacionadas con los tipos prevalentes de arroz maleza (Valverde 2005).

El flujo de genes también se puede dar del arroz maleza al arroz cultivado. Las tasas de cruzamiento pueden ser mayores en esta dirección porque las plantas de arroz maleza con frecuencia son más altas que las del cultivo (Gealy 2005). Tasas de cruzamiento de 0,22% y 0,02% se reportaron en Brasil cuando arroz maleza de glumas pajizas y negras sirvieron como donantes de polen, respectivamente, con arroz resistente a glufosinato como receptor (Noldin et al. 2002). El flujo de genes del arroz maleza al arroz RH es importante porque la dominancia genética de las principales características de maleza puede convertir al arroz cultivado RH en un híbrido de arroz maleza RH (Messeguer et al. 2001). La estatura de la planta posiblemente afecta el grado de cruzamiento. El cruzamiento en el campo entre una variedad marcadora púrpura de porte bajo y el arroz maleza (plantas altas y con hojas verdes) fue del 0,76% mientras que el cruzamiento recíproco fue nulo (Zhang et al. 2003). En otro estudio realizado en Arkansas (EE.UU.) el cruzamiento también fue mayor cuando el arroz maleza de porte alto fue el donante de polen y el arroz cultivado de porte bajo fue el receptor (Estorninos et al. 2003b, 2004).

Flujo de genes entre el arroz resistente a herbicidas y arces silvestres

La especie más cercana al arroz cultivado es *O. rufipogon*, su progenitor inmediato. Ambas especies son altamente compatibles y se hibridan naturalmente (Majumder et al. 1997, Song et al. 2001, Suh et al. 1997). Existe cierta controversia sobre la taxonomía del arroz silvestre, *O. rufipogon*. Vaughan et al. (2005) sugieren que la forma anual de esta especie, comúnmente identificada en la literatura como *O. nivara*, sea denominada *O. rufipogon sensu lato* y que a la forma perenne se le designe *O. rufipogon sensu stricto*. El traslape en floración entre el arroz silvestre y el cultivado es menos común que entre el maleza y el cultivado; sin embargo el traslape se da en áreas donde los dos son simpátricos (Snow et al. 2004, Song et al. 2001). De hecho, la hibridación de las dos especies es uno de los orígenes más probables del arroz maleza. Los híbridos naturales entre arroz cultivado y *O. rufipogon* u *O. nivara* se retrocruzan en cualquiera de las direcciones para producir los tipos variantes morfológicos intermedios que invaden como maleza los campos de arroz (Buu 2000). La mayoría del *O. rufipogon* que se encuentra adyacente a los campos de arroz en Asia tropical es realmente este tipo de arroz maleza; es difícil encontrar poblaciones realmente silvestres sin introgresión de genes de arroz cultivado en estas zonas (Lu et al. 2002, Morishima 2001, Tang & Morishima 1996). Algunos biotipos de arroz maleza podrían haberse originado del flujo de genes entre arces *indica* o *japonica* con formas silvestres (Suh et al. 1997). En algunos casos, las diferencias diarias en floración entre *O. rufipogon* y *O. sativa* dan oportunidad a que el arroz cultivado polinice *O. rufipogon* antes de que lo haga el polen

conespecífico si las especies se desarrollan en proximidad. Una proporción de los híbridos resultantes producen polen fértil por lo que un transgene en un híbrido parcialmente fértil podría transferirse a sí mismo o a los descendientes de retrocruzas (Song et al. 2001).

El flujo máximo de genes del arroz cultivado a *O. rufipogon* perenne bajo condiciones óptimas varió de menos de 1,5% a 3,0% dependiendo del diseño experimental y de la distancia de la fuente de polen. El viento influyó en la distribución del flujo de genes del cultivo hacia la especie silvestre; la hibridación fue mayor en plantas de *O. rufipogon* ubicadas a favor de viento durante el período de floración. La frecuencia de hibridación disminuyó al incrementarse la distancia desde la fuente de polen; se encontraron híbridos a una distancia máxima de 43 m. Estas tasas son más altas que las obtenidas en otros estudios en virtud de las condiciones favorables y posiblemente por el uso de una forma de *O. rufipogon* que ya había sufrido previamente introgresión del cultivo (Song et al. 2003). Tasas inferiores de flujo de genes (1,2-2,2%) se obtuvieron del arroz resistente a glufosinato al *O. rufipogon* perenne silvestre en condiciones de campo en China (Chen et al. 2004).

Las formas intermedias de arroz maleza resultantes del flujo de genes entre variedades tradicionales y *O. rufipogon* silvestre en India proliferaron como resultado de cambios ecológicos e intervención humana al punto de prácticamente causar la extinción de las poblaciones originales de *O. rufipogon* (Majumder et al. 1977). Un caso similar de extinción de poblaciones de *O. rufipogon* se informó recientemente en Tailandia (Akimoto et al. 1999). Sin embargo, debe estipularse que en estos casos no medió la presencia de transgenes.

Existe poca información acerca del flujo de genes del arroz a otras especies silvestres bajo condiciones naturales o agrícolas. Estudios recientes realizados en Costa Rica corroboraron el cruzamiento entre el arroz cultivado y la especie nativa *O. glumaepatula* (genoma AA) en ambientes naturales (Lentini & Espinoza 2005). Puesto que el arroz se siembra ocasionalmente cerca de poblaciones de *O. glumaepatula* y porque las prácticas de manejo del arroz y cambios en los patrones de tiempo pueden provocar que la floración de ambas especies coincida, es factible que ellas se crucen. Los cruces naturales aparentan ser estériles pero aquellos híbridos interespecíficos que logren retrocruzarse espontáneamente con el arroz podrían tener una ventaja adaptativa (Lentini & Espinoza 2005). También es posible que ocurran hibridaciones esporádicas con algunos arroces poliploides de manera similar a lo observado en el trigo (Vaughan et al. 2005b, Levy & Feldman 2002, Weissmann et al. 2005). Song et al (2002) trataron de forzar la hibridación de dos cultivares *japonica* resistentes a glufosinato con *O. officinalis* (genoma CC) mediante la emasculación de anteras. A pesar de que el polen de las plantas transgénicas germinó sobre el estigma de la especie silvestre y su tubo polínico penetró el estigma, la fertilización no tuvo éxito y no se produjo semilla. La incompatibilidad entre las dos especies da por sentada la imposibilidad del flujo de genes entre ellas (Liu et al. 2004, Song et al. 2002).

Persistencia de los híbridos entre arroz cultivado y arroz maleza o silvestre

El destino de un transgene que es neutro o costoso para la planta silvestre estará determinado en la población silvestre por la deriva genética, pero aquellos que aumentan la supervivencia o la fecundidad aumentarán naturalmente en frecuencia si dichos genes tienen una ventaja selectiva (Pilson & Prendeville 2004). Los genes de RH son neutros en ausencia de la selección por el uso del herbicida por lo que no se esperaría que el arroz maleza o silvestre resistente causara un problema más severo cuando no se usa el herbicida. Si los transgenes confieren ventaja adaptativa tales como los que codifican la resistencia a insectos y patógenos y al estrés ambiental (salinidad, sequía, metales pesados), la situación puede ser diferente. Los herbívoros y los hongos y bacterias fitopatógenas que son plagas comunes en el arroz cultivado también afectan al arroz maleza y a *O. rufipogon*; algunos de ellos causan daño extensivo a estas plantas (Snow et al. 2004). La resistencia a estos patógenos e insectos puede alterar la dinámica poblacional del arroz maleza y silvestre. Según un informe reciente, variedades de arroz indica transformadas para resistir el virus de la hoja blanca y el herbicida glufosinato crecieron más altas y produjeron más hijos y grano que las correspondientes variedades convencionales bajo condiciones de campo (Saborío 2004). Las posibles consecuencias en términos de adaptabilidad y persistencia de estas variedades como poblaciones ferales no se han estudiado.

La persistencia de híbridos entre arroz silvestre y cultivado también dependerá de la ventaja selectiva o adaptabilidad de los híbridos en relación con sus progenitores, especialmente en términos de capacidad reproductiva. El vigor híbrido no es sinónimo de ventaja competitiva y mayor adaptabilidad (*fitness*). La productividad relativa de híbridos F_1 interespecíficos entre arroz y *O. rufipogon* perenne en comparación con sus especies progenitoras se comparó bajo condiciones de campo (Song et al.

2004b). Las plantas híbridas se asemejaron más a *O. rufipogon* pero fueron más altas y produjeron más hijos y panículas (vigor híbrido) que sus progenitores. Los híbridos, sin embargo, tuvieron una menor supervivencia de plántulas, menor viabilidad del polen y menor producción de semillas. La productividad total de los híbridos fue similar a la de su progenitor silvestre aunque tenían menor latencia. Por lo tanto, transgenes neutros provenientes del cultivo, como los de RH, podrían persistir en las poblaciones de arroz silvestre a frecuencias bajas.

La productividad de ocho poblaciones F_2 producidas a partir de cruces controlados de líneas de arroz resistentes a glufosinato y cuatro biotipos de arroz maleza se evaluaron en dos localidades en los EE.UU. Las poblaciones fueron similares en el vigor de las plantas, producción de semilla y latencia de las semillas a las poblaciones obtenidas de cruces análogos empleando arroz convencional y arroz maleza (Oard et al. 2000). Para determinar si los transgenes pueden persistir en la población es necesario realizar experimentos de adaptabilidad. Los híbridos y sus descendientes deben ser capaces de competir tanto con el cultivo como con el arroz maleza. Híbridos naturales y F_1 controladas entre arroz resistente a glufosinato y maleza y entre una variedad púrpura marcadora con arroz maleza mostraron vigor híbrido para madurez, altura de planta y longitud de la hoja bandera pero tuvieron una fecundidad disminuida. Algunos híbridos maduraron unos dos meses después de sus progenitores y fueron muy infértiles (Zhang et al. 2003). No se presentó cruzamiento natural entre estas líneas cuando el donante de polen fue el cultivar. La maduración de poblaciones F_2 estuvo influida fuertemente por efectos maternos con un menor número de plantas con panículas cuando el donante fue el arroz cultivado. En estudios similares realizados en Brasil (Noldin et al. 2004) empleando poblaciones F_2 provenientes de cruces artificiales entre arroz resistente a glufosinato y dos biotipos de arroz maleza (glumas pajizas y negras) también se obtuvo mayor producción de semilla cuando el arroz cultivado era el donante de polen. Los híbridos de segunda generación provenientes del cruce de arroz cultivado con arroz maleza de glumas pajizas tuvieron un ciclo de vida más largo que cualquiera de sus progenitores mientras que aquellos obtenidos por el cruce de arroz cultivado con arroz maleza de glumas negras tuvieron características intermedias a las de sus progenitores. Los híbridos F_2 no tuvieron una ventaja competitiva aparente superior al arroz maleza pero no se estudiaron bajo condiciones de competencia. En comparación con su progenitor maleza, los híbridos F_2 fueron de menor estatura, más estériles, produjeron menos hijos, tuvieron un número similar o inferior de hojas, y desgranaron menos.

La reducción de la fecundidad de un híbrido no garantiza una penalización en la adaptabilidad puesto que una mayor supervivencia de la semilla puede compensar la disminución de la fecundidad (Claessen et al 2005a). En cultivos como el arroz que no acumulan un gran banco de semillas en el suelo, un transgene que mejore la supervivencia de las semillas o aumente la fracción latente en el banco de semilla podría incrementar su persistencia. Por tal razón se ha sugerido que es conveniente evaluar la supervivencia de semillas de las líneas transgénicas. Esto también significa que es prudente emplear cultivares con baja capacidad de supervivencia de semillas como base para desarrollar las líneas transgénicas (Claessen et al 2005a, 2005b). Además, las limitaciones en la fertilidad se pueden superar si los híbridos se retrocruzan con cualquiera de sus progenitores. Algunos híbridos de arroz x arroz maleza al igual que su descendencia y retrocruces con progenitor maleza (BC_1) tuvieron mayor fecundidad y biomasa que su progenitor maleza sugiriendo que los genes del cultivo que son selectivamente neutros o beneficiosos podrían persistir o hasta aumentar en la descendencia de una generación posterior (Snow et al, 2004), lo cual no puede ser verificado en ausencia de competencia.

La latencia de las semillas en el arroz maleza esta impuesta por las coberturas seminales o el pericarpio/testa o ambos (Gu et al. 2003, 2005a). Algunos biotipos de arroz maleza que poseen una latencia débil o que no la tienen comparten ciertas características morfológicas con los cultivares y posiblemente se originaron de la hibridación con el cultivo (Gu et al. 2005a). Para estudiar las relaciones entre latencia y comportamiento como maleza se emplearon poblaciones F_1 de retrocruzamientos (BC_1F_1) obtenidas de arroces maleza con latencia muy fuerte y una línea de mejoramiento sin latencia como receptora. Las características de las semillas del arroz maleza (desgrane, presencia de arista, color oscuro de las glumas, y pericarpio rojo) se asociaron individualmente o en combinación con la latencia en las poblaciones BC_1F_1 . Esta asociación se corroboró en estudios posteriores con poblaciones sujetas a selección recurrente por cinco generaciones (Gu et al. 2005b). Esto enfatiza la importancia de los efectos combinados de la latencia con otras características de la maleza en la adaptación de las poblaciones del arroz maleza en los agroecosistemas. También se reafirma la noción de que la domesticación ha eliminado alelos de latencia en loci cerca de los genes de desgrane y otras características morfológicas de la maleza (Gu et al. 2005a). En los descendientes de poblaciones de híbridos artificiales entre arroz resistente a

glufosinato y arroz maleza de Brasil no se observaron efectos aparentes sobre la latencia de semillas (Noldin et al.2004).

Prevención del flujo de genes

Para poder mantener vigentes las variedades de arroz RH y la tecnología asociada con ellas es importante prevenir el flujo de (trans)genes de resistencia. Se han propuesto varias técnicas moleculares para prevenir el flujo de transgenes. El transgene de interés podría insertarse en el genoma del cloroplasto lo que limitaría sustancialmente su transmisión vía polen dada la herencia predominantemente materna de este genoma (Daniell 2002, Maliga 2002). Esta técnica, sin embargo, no impediría el flujo de genes del arroz maleza hacia el arroz transgénico para producir híbridos resistentes al herbicida. Una opción para mejorar la eficacia de los caracteres transplastómicos es la de incorporarlos a variedades andro-estériles (Wang et al. 2004). Igualmente es posible limitar genéticamente la viabilidad de la semilla pero este tipo de tecnología ha suscitado fuerte oposición porque limitaría la posibilidad de guardar grano para ser usado luego como semilla.

También se han sugerido otras técnicas para mitigar los efectos del flujo de genes cuando este irremediablemente se presenta. Gressel (1999) propuso el concepto de mitigación transgénica según la cual genes mitigantes se unen al transgene de interés en el proceso de transformación. Así, las formas espontáneas (voluntarias) del cultivo transgénico al igual que la descendencia de sus híbridos tendrían menos oportunidad de reproducirse en asocio con sus competidores no transgénicos en virtud de que los genes mitigantes se encargarían de reducir su capacidad adaptativa en ausencia del herbicida. Algunos genes que podrían considerarse como mitigantes en arroz incluyen los que codifican por enanismo, fuerte dominancia apical para prevenir el macollamiento, uniformidad en la maduración, anti-desgrane y anti-latencia secundaria. Estas técnicas todavía no se usan comercialmente por lo que la prevención y mitigación del flujo de genes en la práctica depende fundamentalmente de medidas agronómicas.

En el caso del arroz IMI, sembrado comercialmente en varios países latinoamericanos, la compañía distribuidora (BASF) ha adoptado un programa de custodia, el cual varía según las particularidades de cada país. En general, el programa de custodia procura obtener el máximo control del arroz maleza y evitar la reproducción de plantas que sobreviven. Estas plantas deben eliminarse antes de que produzcan semilla preferiblemente desarraigándolas del suelo. En la mayoría de los países se autoriza y recomienda la aplicación repetida de herbicidas imidazolinonas, en dosis completas. En casos extremos, los agricultores realizan una aplicación tardía (de rescate) si el control es inadecuado. No se recomienda la siembra sucesiva de arroz IMI en el mismo campo más de dos veces. El arroz espontáneo debe eliminarse antes de la siembra de una variedad convencional en rotación con el arroz IMI. Se le impide al agricultor guardar semilla para siembras posteriores. En algunos países, herbicidas imidazolinonas usados para el control de malezas en áreas no agrícolas se han sacado del mercado para prevenir su uso en siembras ilegales de arroz IMI. Este tipo de prácticas de contención no logran evitar completamente el flujo de genes del arroz cultivado al maleza. Las experiencias descritas en los EE.UU. y Costa Rica demuestran que los genes de resistencia se mueven al arroz maleza a pesar de estas acciones preventivas.

Bibliografía

Akimoto, M.; Shimamoto, Y. and Morishima, H. 1999. The extinction of genetic resources of Asian wild rice, *Oryza rufipogon* Griff.: A case study in Thailand. *Genet. Resources Crop Evol.* 46:419-425.

Beachell, H.M.; Adair, C.R.; Jodon, N.E.; Davis, L.L. and Jones, J. 1938. Extent of natural crossing in rice. *J. Am. Soc. Agron.* 30:743-753.

Bellon, M.R. 2004. Conceptualizing interventions to support on-farm genetic resource conservation. *World Dev.* 32:159–172.

Bond, C.A.; Carter, C.A. and Farzin, Y.H. 2004. Grower benefits from the adoption of genetically modified rice in California. *Agricultural and Resource Economics Update* 7:1-4.

- Burgos, N.R.; Shivrain, V.K.; Sales, M.A. and Anders, M.M. 2005. Outcrossing potential of Clearfield™ rice varieties with red rice. *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. B. R. Wells Rice Research Studies–2004. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 529. Pp. 103–109.
- Buu, B.C. 2000. Collecting wild relatives of rice from the Mekong Delta, Vietnam: Distinguishing wild rice from weedy rice. Pages 5-6 *in* B. B. Baki, D. V. Chin and M. Mortimer, eds. Wild and weedy rices in rice ecosystems in Asia – A review. Manila: Int. Rice Res. Inst.. Limited Proceedings No. 2.
- Chen, L.J.; Lee, D.S.; Song, Z.P.; Suh, H.S. and Lu, B-R. 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann. Bot.* 93:67-73.
- Chopra, V.L.; Shantharam, S. and Sharma, R.P. eds. 2005. Biosafety of transgenic rice. National Academy of Agricultural Sciences (NAAS). New Delhi, India, 237 pp.
- Claessen, D.; Gilligan, C.A.; Lutman, P.J. and Van den Bosch F. 2005a. Which traits promote persistence of feral GM crops? Part 1: implications of environmental stochasticity. *Oikos* 110:20-29.
- Claessen, D.; Gilligan, C.A. and Van den Bosch, F. 2005b. Which traits promote persistence of feral GM crops? Part 2: implications of metapopulation structure. *Oikos* 110:30-42.
- Dale, P.J.; Clarke, B. and Fontes, E.M.G. 2002. Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nature Biotechnol.* 20:567-574.
- Daniell, H. 2002. Molecular strategies for gene containment in transgenic crops. *Nat. Biotechnol.* 20: 581-586.
- Davies, E.L.P. 1984. Mechanical and chemical methods for the control of annual wild rice (*Oryza barthii*). *Trop. Pest Manage.* 30:319-20.
- Editorial Note. 2002. *Nature* 416:600.
- Ellstrand, N.C. 2003. Dangerous Liaisons? When cultivated plants mate with their wild relatives. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 244 pp.
- Estorninos, L.E.; Gealy, Jr.D.R.; Baldwin, T.L.; Baldwin, F.L. and Burgos, N.R. 2003a. Estimates of outcrossing rates between IMI rice lines and red rice based on SSR fingerprinting and phenotypic characteristics. *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. B. R. Wells Rice Research Studies–2002. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 504. Pp. 33–40.
- Estorninos, L.E.; Gealy, Jr.D.R.; TeBeest, D.O. and Burgos; N.R. 2003b. Reciprocal outcrossing rates between non-herbicide-resistant rice and red rice. *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. B. R. Wells Rice Research Studies–2002. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 504. Pp. 41–46.
- Estorninos, L.E.; Gealy, Jr.D.R.; TeBeest, D.O. and Burgos, N.R. 2004. Use of SSR markers to determine reciprocal outcrossing rates between non-herbicide-resistant rice and red rice. *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. B. R. Wells Rice Research Studies–2003. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 517. Pp. 37–42.
- Federici, M.T.; Vaughan, D.; Tomooka, N.; Kaga, A.; Wang, X.W.; Doi, K.; Francis, M.; Zorrilla, G. and Saldain, N. 2001. Analysis of Uruguayan weedy rice genetic diversity using AFLP molecular markers. *Electr. J. Biotechnol.* 4:130-45.
- Gealy, D.R. 2005. Gene movement between rice (*Oryza sativa*) and weedy rice (*Oryza sativa*) – A U.S. temperate rice perspective. Pages 323-354 *in* J. Gressel, ed. Crop ferality and volunteerism. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group.

- Gealy, D. R., D. H. Mitten and J. N. Rutger. 2003. Gene flow between red rice (*Oryza sativa*) and herbicide-resistant rice (*O. sativa*): Implications for weed management. *Weed Technol.* 17:627–645.
- Gealy, D.R.; Tai, T.H. and Sneller, C.H. 2002. Identification of red rice, rice, and hybrid populations using microsatellite markers. *Weed Sci.* 50:333–339
- Gealy, D.R.; Estorninos, L.E.Jr.; and Wilson, C.E. 2005. Identifying red rice crosses in Arkansas rice fields. *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. *B. R. Wells Rice Research Studies–2004*. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 529. Pp. 201–209.
- Gressel, J. 1999. Tandem constructs: preventing the rise of superweeds. *Trends Biotech.* 17:361-366.
- Gressel, J. 2002. *Molecular biology of weed control*, London: Taylor and Francis, 504 pp.
- Gressel, J. eds. 2005. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, 422 pp.
- Gu, X.Y.; Chen, Z.X. and Foley, M.E. 2003. Inheritance of seed dormancy in weedy rice. *Crop Sci.* 43:835-843.
- Gu, X.Y.; Kianian, S.F. and Foley, M.E. 2005a. Seed dormancy imposed by covering tissues interrelates to shattering and seed morphological characteristics in weedy rice. *Crop Sci.* 45:948-955.
- Gu, X.Y.; Kianian, S.F. and Foley, M.E. 2005b. Phenotypic selection for dormancy introduced a set of adaptive haplotypes from weedy into cultivated rice. *Genetics: In press*.
- Holm, L.; Doll, J.; Holm, E.; Pancho, J. and Herberger, J. 1997. *World weeds. Natural histories and distribution*. New York: John Wiley and Sons, Inc., pp. 531-47.
- Hossain, M.; Gollin, D.; Cabanilla, V.; Cabrera, E.; Jonson, N.; Khush, G.S. and McLaren, G. 2003. International research and genetic improvement in rice: evidence from Asia and Latin America. Pages 5-108 *in* R. E. Evenson and D. Gollin, eds. *Crop variety improvement and its effect on productivity: The impact of international agricultural research*. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Huang, J.; Hu, R.; Rozelle, S. and Pray, C. 2005. Insect-resistant GM rice in farmers' fields: Assessing productivity and health effects in China. *Science* 308:688-690.
- Jia, S. 2002. Studies on gene flow in China – A review. *Proc. 7th Int. Symp. on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, Beijing, China, pp 92-97.
- Jia, S. and Peng, Y. 2002. GMO Biosafety Research in China. *Environ. Biosafety Res.* 1:5–8.
- Johnson, D.E.; Wopereis, M.C.S.; Mbodj, D.; Diallo, S.; Powers, S. and Haefele, S.M. 2004. Timing of weed management and yield losses due to weeds in irrigated rice in the Sahel. *Field Crops Res.* 85: 31–42.
- Johnson, D.E. 1997. *Weeds of Rice in West Africa*. Bouake, Côte d'Ivoire: West Africa Rice Development Association, 312 pp.
- Johnson, D.E.; Riches, C.R.; Kayake, J.; Sarra, S. and Tuor, F.A. 2000. Wild rice in sub-Saharan Africa: its incidence and scope for improved management. *FAO Global Workshop on Red Rice Control*, Cuba, August 30–September 3, 1999, Rome: Food and Agriculture Organization, pp. 87–94.
- Jung, S. and Back, K. 2005. Herbicidal and antioxidant responses of transgenic rice overexpressing *Myxococcus xanthus* protoporphyrinogen oxidase. *Plant Physiol. Biochem.* 43:423–430.
- Kawahigashia, H.; Hirose, S.; Inui, H.; Ohkawa, H. and Ohkawa, Y. 2005. Enhanced herbicide cross-tolerance in transgenic rice plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19. *Plant Sci.* 168:773–781.

Keeler, K.H.; Turner, C.E. and Bolick, M.R. 1996. Movement of crop transgenes into wild plants, Pages 303-330 in *Herbicide resistant crops: agricultural, environmental, economic, regulatory and technical aspects*, Boca Raton, FL, USA: CRC Lewis.

Langevin, S.A.; Clay, K. and Grace, J.B. 1990. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). *Evolution* 40:1000-1008.

Lentini, Z. and Espinoza, A.M. 2005. Coexistence of weedy rice and rice in tropical America – Gene flow and genetic diversity. Pages 305-322 in J. Gressel, ed. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group.

Levy, A.A. and Feldman, M. 2002. The impact of polyploidy on grass genome evolution. *Plant Physiol.* 130:1587-1593.

Liu L.L.; Qiang, S.; Song, X.L. and Hu, J.L. 2004. Observation of the sexual incompatibility between wild rice (*Oryza officinalis* wall) and transgenic rice by fluorescence microscope. *Scientia Agric. Sinica* 37:469-472.

Lu, B.R. and Snow, A.A. 2005. Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. *BioScience* 55:669-678.

Lu, B.R.; Song, Z.P. and Chen, J.K. 2003. Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? *Progr. Nat. Sci.* 13: 17-24.

Lu, B.R.; Zheng, K.L.; Qian, H.R. and Zhuang, J.Y. 2002. Genetic differentiation of wild relatives of rice as assessed by RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 106:101-106.

Madsen, K.H.; Valverde, B.E. and Jensen, J.E. 2002. Risks assessment of herbicide resistant crops: A Latin American perspective using *Oryza sativa* as a model. *Weed Technology* 16:215–223.

Majumder, N.D.; Ram, T. and Sharma, A.C. 1997. Cytological and morphological variation in hybrid swarms and introgressed populations of interspecific hybrids (*Oryza rufipogon* Griff. and *Oryza sativa* L.) and its impact on evolution of intermediate types. *Euphytica* 94:295–302.

Maliga, P. 2002. Engineering the plastid genome of higher plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:164-172

Messeguer, J.; Fogher, C.; Guidernoni, E.; Marfà, V.; Català, M.M.; Baldi, G. and Mele, E. 2001. Field assessments of gene flow from transgenic to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance gene as tracer marker. *Theor. Appl. Genet.* 103:1151-1159.

Messeguer, J.; Marfà, V.; Català, M.M.; Guidernoni, E. and Mele, E. 2004. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Mol Breeding* 13:103-112.

Morishima, H. 2001. Evolution and domestication of rice. Pages 63-77 in G. S. Khush, D. S. Brar and B. Hardy, eds. *Rice Genetics IV. Proc. 4th Intl. Rice Genet. Symp.* New Dehli: India: Science Publishers Inc., Los Baños (Philippines): International Rice Res Inst.

Noldin, J.A.; Yokoyama, S.; Antunes, P. and Luzzardi, R. 2002. Potencial de cruzamento natural entre o arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio e o arroz daninho. *Planta Daninha* 2: 243-251.

Noldin, J.A.; Yokoyama, S.; Stuker, H.; Rampelotti, F.T.; Gonçalves, M.I.F.; Eberhardt, D.S.; Abreu, A.; Antunes, P. e Vieira, J. 2004. Desempenho de populações híbridas F₂ de arroz-vermelho (*Oryza sativa*) com arroz transgênico (*O. sativa*) resistente ao herbicida amonio-glufosinate. *Planta Daninha* 22:381-395.

- Oard, J.; Cohn, M.A.; Linscombe, S.; Gealy, D. and Gravios, K. 2000. Field evaluation of seed production, shattering, and dormancy in hybrid populations of transgenic rice (*Oryza sativa*) and the weed, red rice (*Oryza sativa*). *Plant Sci.* 157:13–22.
- Olofsdotter, M.; Valverde, B.E. and Madsen, K.H. 2000. Herbicide resistant rice (*Oryza sativa* L.): Global implications for weedy rice and weed management. *Ann. Appl. Biol.* 137:279-95.
- Ortiz-García S.; Ezcurra, E.; Schoel, B.; Acevedo, F.; Soberón, J. and Snow, A.A. 2005. Absence of detectable transgenes in local landraces of maize in Oaxaca, Mexico (2003-2004). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (*in press* – available online).
- Peña-Deyán, J.L. and Ortiz, A. 2001. Determinación de las especies involucradas en el complejo de maleza denominado arroz rojo en las zonas arroceras de Venezuela. *Agron. Trop.* 51:439-51.
- Pilson, D. and Prendeville, H.R. 2004. Ecological effects of transgenic crops and the escape of transgenes into wild populations. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:149-174.
- Quist, D. and Chapela, I.H. 2001. Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414: 541-543.
- Rajguru, S.N.; Burgos, N.R.; Shivrain, V.K. and Stewart, J.McD. 2005. Mutations in the red rice ALS gene associated with resistance to imazethapyr. *Weed Sci.* 53:567-577.
- Raybould, A.F. and Gray, A.J. 1993. Genetically modified crops and hybridisation with wild relatives: A UK perspective. *J. Appl. Ecol.* 30: 199-219.
- Rong, J.; Xia, H.; Zhu, Y.; Wang, Y. and Lu, B.R. 2004. Asymmetric gene flow between traditional and hybrid rice varieties (*Oryza sativa*) indicated by nuclear simple sequence repeats and implication for germplasm conservation. *New Phytol.* 163:439–445.
- Saborío, G. 2004. Selección de líneas transgénicas T2 y T3 de arroz (*Oryza sativa*) obtenidas a partir de las variedades tipo *indica* CR-5272 y CR-1821. Evaluación morfológica y fenológica. Tesis. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, 118 pp.
- Sánchez-Olguín, E. 2001. Caracterización morfológica de las poblaciones de arroces maleza en fincas arroceras de Guanacaste y Parrita. Tesis. Bachiller. Costa Rica: Escuela de Agronomía, Sede Regional de San Carlos, Instituto Tecnológico de Costa Rica. 54 pp.
- Sankula, S.; Braverman, M.P. and Oard, J.H. 1998. Genetic analysis of glufosinate resistance in crosses between transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*). *Weed Technol.* 12: 209–214.
- Shivrain, V.K.; Burgos, N.R.; Stiers, E.N.; Moldenhauer, K.A.K. and Gealy, D.R. 2003. Morphology and phenology of putative outcrosses between imazethapyr-resistant rice and red rice (*Oryza sativa*). *In* R. J. Norman and T. H. Johnston, eds. *B. R. Wells Rice Research Studies–2002*. Fayetteville: University of Arkansas Agriculture Experiment Station, Series 504. Pp. 105–111.
- Snow, A.A.; Lang, N.T.; Buu, B.C.; Cohen, M.B.; Reagon, M.R.; Quilloy, S.M.; Lan, L.P. and Cha, L.M. 2004. Crop-weed and crop-wild hybridization in rice in Vietnam: a progress report. *Proc. 8th Int. Symp. on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, Montpellier, France, pp 79-82.
- Song, X-L. ; Qiang, S. ; Liu, L-L.; Xu, Y-H. and Liu, Y-L. 2002. Gene flow of pollen cross between *Oryza officinalis* Wall and transgenic rice with bar gene. *J. Nanjing Agric. Univ.* 25:5-8.
- Song, Z.P.; Lu, B.R. and Chen, J.K. 2001. A study of pollen viability and longevity in *Oryza rufipogon*, *O. sativa* and their hybrids. *Int. Rice Res. Notes* 26:31-32.

- Song, Z.P.; Lu, B.R.; Wang, B. and Chen, K.K. 2004b. Fitness estimation through performance comparison of F-1 hybrids with their parental species *Oryza rufipogon* and *O. sativa*. *Ann. Bot.* 93: 311-316.
- Song, Z.P.; Lu, B-R.; Zhu, Y.G. and Chen, J.K. 2003. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. *New Phytologist* 157:657-665.
- Song, Z.; Lu, B-R. and Chen, J. 2004a. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodivers. Conserv.* 13:579–590.
- Stewart, C.N.Jr. 2004. *Genetically Modified Planet, Environmental Impact of Genetically Engineered Plants*. New-York: Oxford University Press, 240 pp.
- Suh, H.S.; Sato, Y.I. and Morishima, H. 1997. Genetic characterisation of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 94:316–321.
- Tang, L.H. and Morishima, H. 1996. Genetic characteristics and origin of weedy rice. Pages 211-128 in X. Wang and C. Sun, eds. *Origin and differentiation of Chinese cultivated rice*. China: China Agricultural University Press, (Available <http://www.carleton.ca/~bgordon/Rice/papers/tang96.htm>. Accessed July 2005).
- United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service (USDA-APHIS). 1999. Finding of no significant impact. AgrEvo USA company petition 98-329-01p determination of nonregulated status for glufosinate tolerant rice transformation events LLRICE06 and LLRICE62. Internet available: <http://www.agbios.com/docroot/decdocs/01-290-077.pdf>. Accessed July 2005.
- Valverde, B.E. 2005. The damage by weedy rice – Can feral rice remain undetected. Pages 279-294 in J. Gressel, ed. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Vaughan, D.A.; Kadowaki, K.; Kaga, A. and Tomooka, N. 2005a. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. *Breeding. Sci.* 55:113-122.
- Vaughan, D.A. and Morishima, H. 2003. Biosystematics of the genus *Oryza*. Pages 27-65 in C. W. Smith and R. H. Dilday, eds. *Rice: Origin, history, technology, and production*. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- Vaughan, D.A.; Sanchez, P.L.; Ishiki, J.; Kaga, A. and Tomooka, N. 2005b. Asian rice and weedy rice – Evolutionary perspectives. Pages 257-277 in J. Gressel, ed. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group
- Vaughan, D. and Tomooka, N. 1999 Wild rice in Venezuela. *Rice Res. Genet.* 16:15-16.
- Vaughan, L.K.; Ottis, B.V.; Prazak-Havey, A.M.; Sneller, C.; Chandler, J.M. and Park, W.D. 2001. Is all red rice found in commercial rice really *Oryza sativa*? *Weed Sci.* 49:468-76.
- Vidotto, F. and Ferrero, A. 2005. Modeling population dynamics to overcome feral rice in rice. Pages 355-370 in J. Gressel, ed. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Wang, T.; Li, Y.; Shi, Y.; Reboud, X.; Darmency, H. and Gressel, J. 2004. Low frequency transmission of a plastid encoded trait in *Setaria italica*. *Theor. Appl. Genet.* 108:315-320.
- Warwick, S.I. and Stewart, C.N.Jr. 2005. Crops come from wild plants – How domestication, transgenes, and linkage together shape ferality. Pages 9-30 in J. Gressel, ed. *Crop ferality and volunteerism*. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Weissmann, S.; Feldman, M. and Gressel, J. 2005. Sporadic intergeneric DNA introgression from wheat into wild *Aegilops* species. *Molec. Biol. Evol.* (*in press*).

Wolfenbarger, L.L. and Phifer, P.R. 2000. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290:2088-2093.

Zhang, N.; Linscombe, S. and Oard, J. 2003. Outcrossing frequency and genetic analysis of hybrids between transgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice. *Euphytica*. 130:35–45.

Zhu, Y.; Chen, H.; Fan, J.; Wang, Y.; Li, Y.; Chen, J.; Fan, J.X.; Yang, S.; Hu, L.; Leung, H.; Mew, T. W.; Teng, P.S.; Wang, Z. and Mundt, C.C. 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406:718–722.

Zi, X. 2005. GM rice forges ahead in China amid concerns over illegal planting. *Nature Biotechnol.* 23:637.