Estación Experimental Agropecuaria
Marcos Juárez

Evaluación del daño de oruga militar (*Spodoptera frugiperda*) en diferentes híbridos comerciales de maíz transgénicos.

Flores, Fernando Balbi, Emilia. INTA Marcos Juárez

E-mail: flores.fernando@inta.gob.ar

Palabras clave: maíz – plagas – oruga militar - transgénicos

Introducción

La producción de maíz (Zea mays L.) en Argentina se extiende desde el sur de Buenos Aires al norte de Salta, con climas templado serrano, templado pampeano húmedo, tropical serrano y subtropical con estación seca. Esta característica posibilita dos períodos de siembra en un mismo año, en octubre (de primera) y noviembre-diciembre (de segunda) para las regiones centro y núcleo. Esta gran ventana de siembra permite que la posibilidad de infestación de plagas como la oruga cogollera o militar (Spodoptera frugiperda" sea diferente para las distintas regiones del país registrándose ataques sólo en siembras tardías para la región centro y sur del país. Distinta es la situación en cultivos de primera y segunda en distintos estados fenológicos en el norte del país de la misma forma que ocurre en Brasil donde es la principal plaga que registra el cultivo de maíz.

Desde 1998 en Argentina se cuenta con la posibilidad de utilizar variedades de maíz transgénico (geneticamente modificados, GM) resistentes a insectos lepidópteros, particularmente efectivos para el control del barrenador *Diatraea saccharalis.* Esto fue logrado mediante la introducción de genes que expresan toxinas modificadas de *Bacillus thuringiensis*.

En el año 2005 se aprobó para su liberación al mercado el evento TC 1507 denominado Herculex cuyo gen introducido expresa la proteína Cry1F2 para el control de la oruga militar.

El evento de transformación contiene el gen anteriormente expresado, un promotor del gen, un marcador y un localizador del gen dentro del DNA de la planta de maíz. Estos factores dan como resultado una variación de la expresión del gen y performance en el control de insectos.

Cuando se inscribe un evento transgénico para su aprobación debe suministrarse la información referente al nivel de expresión de la toxina en las distintas partes de la planta en diferentes estados de fenológicos, generalmente expresados en ug/gr de peso seco. Dicho valor debe corresponderse con los principios básicos del manejo de resistencia de insectos (MRI).

Debido a las bondades ambientales del uso de estas proteínas insecticidas y a los beneficios comprobados de los maíces Bt, en los países adoptantes de la tecnología, incluyendo Argentina, los organismos regulatorios encargados de evaluar la bioseguridad ambiental de los cultivos transgénicos (la CONABIA en nuestro país) han propuesto medidas para preservar la vida útil de estos productos. El objetivo principal es demorar el surgimiento de insectos resistentes al maíz Bt, para lo cual se ha diseñado un programa de MRI basado en múltiples estrategias.

La base fundamental del programa de MRI es evitar que aumente la cantidad de insectos que naturalmente presentan resistencia a las biotoxinas Bt (los insectos pueden presentar variantes genéticas en los receptores –mutaciones– que evitan el accionar de la proteína Bt). El programa de MRI se debe adecuar a cada sistema en particular (cultivo Bt + plaga + agroecosistema) en base al conocimiento sobre la biología de los insectos blanco y a la genética de la resistencia al gen Bt introducido.

El éxito del MRI para el retardo en la aparición de insectos resistentes depende principalmente en la alta expresión de la o las proteínas insecticidas para la plaga blanco aportadas por las compañías y la adopción de refugios por parte del productor que utiliza dicha tecnología.-

En el cuadro N° 1 pueden observarse los eventos aprobados en Argentina y su resistencia o tolerancia a insectos o herbicidas respectivamente. Allí se puede observar que en los 10 primeros años de liberación de eventos biotecnológicos solo hay eventos simples, pasando a la liberación de eventos apilados a partir del 2010 con nuevas proteínas insecticidas y aumentando el espectro de acción.

Los eventos que presentan genes apilados que tienen especificidad para distintas especies del orden Lepidóptera pueden demorar la aparición de resistencia, pero en aquellos eventos con toxinas específicas para una sola especie la aparición de individuos resistentes posiblemente ocurra de igual forma que en los eventos simples.

El plan de MRI incluye el monitoreo de la resistencia en el tiempo una vez que los eventos son liberados para su comercialización, es por este motivo que se realizaron en el INTA Marcos Juárez una serie de ensayos con la finalidad del estudio del comportamiento de diferentes eventos frente a la oruga cogollera.

Cuadro N° 1: Eventos transgénicos aprobados para su comercialización (CONABIA 2014)

Característica	Toxina	Evento	Compañía	Año
RL	cry1Ab	176	*	1998
RL	cry1Ab	MON810	MaízGard (MG) (Monsanto)	1998
RL	cry1Ab	Bt11	Agrisure TDMax (Syngenta)	2001
RL y TH (glu)	cry1Fa2 y pat	TC 1507	rculex (Hx) + Liberty Link (L (Pioneer + Dow)	2005
RL y TH (gli)	cry1Ab y cp4-epsps	NK603 x MON810 a	MG + RR2 (Monsanto)	2007
RL y TH (glu+gli)	cry1Fa2, pat y cp4-epsps	TC1507 x NK603 a	Hx+LL+RR2 (Pioneer + Dow)	2008
RL y TH (gli)	cry1Ab y epsps	Bt11 x GA21	Agrisure TD/TG (Syngenta)	2009
RC y TH (gli)	cry3Bb1 y cp4-epsps	MON88017	(Monsanto)	2010
RL	cry1A.105 y cry2Ab	MON89034	(Monsanto)	2010
RL, RC y TH (gli)	cry1A.105, cry2Ab, cry3Bb1 y cp4-epsps	MON89034 x MON88017a	VT Triple Pro (Monsanto)	2010
RL	vip3Aa20	MIR162	Agrisure Viptera (Syngenta)	2011
RL y TH (glu+gli)	cry1Ab, y epsps, vip3Aa20	Bt11xGA21xMIR162	Syngenta Agro S.A	2011
RC	mcry3A	MIR604	Syngenta Agro S.A	2011
RL, RC y TH (gli, glu)	cry1Ab, vip3Aa20, mcry3A , y epsps,	Bt11xMIR162xMIR604xGA21 y todas las combinaciones intermedias	Syngenta Agro S.A	2011
RL y TH (glu + gli)	cry1A.105 y cry2Ab, cry1Fa2, pat y cp4-epsps	MON89034xTC1507xNK603	Dow AgroSciences S.A.y Monsanto Argentina S.A.I.C	2012
RL y TH (gli)	cry1A.105 y cry2Ab y cp4-epsps	MON89034 X NK603	Monsanto	2012
RL y TH (gli + glu)	cry1Fa2 y pat, cry1Ab, cp4-epsps	TC1507xMON810xNK603	Pioneer	2013
RL y TH (gli + glu)	cry1Ab, , vip3Aa20,cry1Fa2 + pat y epsps	Bt11xMIR162xTC1507xGA21 y todos los acumulados intermedios	Syngenta	2014

Referencias: RL (Resistencia lepidópteros) TH (Tolerancia herbicidas) RC (Resistencia Coleopteros) Gli (Glifosato) Glu (Glufosinato)

Materiales y métodos

Se sembraron en invernáculo 17 híbridos de maíz de diferentes compañías en macetas de 5 l con la finalidad de obtener 4 plantas por maceta (Cuadro 2). Estos híbridos, que contienen una o más toxinas para el control de lepidópteros, fueron agrupados en función del evento específico. La semilla fue lavada previamente para retirar la carga de insecticida que contenían.

La siembra se realizó el 16 de enero de 2014 bajo condiciones de invernáculo y cuando las plantas alcanzaron el estado de V2 se infestaron con 10 orugas L1 de una población local criada en laboratorio.

Cuadro 2. Híbrido, nombre del evento y toxina incorporada

Híbrido	Evento	Toxina
NK 900 Víptera 3	Víptera	cry1Ab, vip3Aa20, mcry3A
SY 960 TD TG	TD TG	cry1Ab
SY 969 TD TG	TD TG	cry1Ab
SY 840 TD TG	TD TG	cry1Ab
DM 2738 MG RR	MG	cry1Ab
SRM 566 MG RR	MG	cry1Ab
ACA 498 MG	MG	cry1Ab
DOW 505 PW	Power Cord	cry1A.105 y cry2Ab, cry1Fa2
DOW 508 PW	Power Cord	cry1A.105 y cry2Ab, cry1Fa2
DOW 510 PW	Power Cord	cry1A.105 y cry2Ab, cry1Fa2
ACA 474 VT3P	VT Triple Pro	cry1A.105, cry2Ab, cry3Bb1
I 887 VT3P	VT Triple Pro	cry1A.105, cry2Ab, cry3Bb2
ADV 8112 VT3P	VT Triple Pro	cry1A.105, cry2Ab, cry3Bb3
ALZ 515 HX RR2	Herculex	cry1Fa2
M510 HX RR	Herculex	cry1Fa2
SW 5149 CL	Convencional	
SW 5148	Convencional	

Se realizaron tres evaluaciones con la finalidad de observar la supervivencia/mortalidad larval. La tercer evaluación no se presenta en los resultados ya que transcurridos 17 días de infestadas las plantas, al momento de realizar esta última, varias larvas ya habían empupado.

Resultados

Cuadro 3. Evaluación a los 7 días de infestación

Evento	% Daño	Orugas/ maceta	Orugas/ planta	% supervivencia
Víptera	0	0	0,0	0
TD TG	96	2	0,5	5,0
MG	75	1	0,2	2,1
Power Cord	8	0	0,0	0,0
VT Triple Pro	32	1	0,2	1,8
Herculex	75	6	1,5	15,2
Convencional	100	4	1,1	10,7

El porcentaje de daño al que se hace referencia tiene en cuenta el porcentaje de plantas cuyo daño inicial ha superado la etapa conocida como ventanita y no como porcentaje de defoliación. Todos los valores expresan los resultados como promedio de los híbridos que comparten la misma tecnología.

El porcentaje de supervivencia tiene en cuenta el total de orugas encontradas sobre el total de colocadas. Se debe tener en cuenta que esta especie tiene un gran canibalismo que reduce la cantidad a no más de una oruga/planta en condiciones de alta infestación.

Cuadro 4. Evaluación a los 10 días de infestación

Evento	% Daño	Orugas/ maceta	Orugas/ planta	% supervivencia
Víptera	0	0,0	0,0	0
TD TG	96	1,8	0,5	5,0
MG	79	0,5	0,1	1,5
Power Cord	8	0,0	0,0	0,0
VT Triple Pro	32	0,7	0,2	1,8
Herculex	94	4,8	1,3	13,1
Convencional	100	3,5	1,0	10,0

A los 10 días de infestación no se modificaron los resultados en cuanto a la supervivencia final, encontrándose las larvas en el 4to estadio larval.

Cuadro 5. Porcentaje de plantas con daño a los 7 días de infestación según número de hojas

Evento	% Daño	1 Hoja	2 Hojas	3 Hojas	4 Hojas
Víptera	0	0	0	0	0
TD TG	96	23	27	32	14
MG	75	36	23	9	5
Power Cord	8	9	0	0	0
VT Triple Pro	32	14	5	14	0
Herculex	75	7	13	20	33
Convencional	100	29	14	57	0

Los valores expresan el porcentaje total de plantas que expresaron daño y discriminado según el porcentaje de plantas con daño en 1, 2, 3 y 4 hojas. En el cuadro 6 se detalla la evolución del daño que demuestra la alta movilidad larval dentro de la planta.

Cuadro 6. Porcentaje de plantas con daño a los 10 días de infestación según de hojas

Evento	% Daño	1 Hoja	2 Hojas	3 Hojas	4 Hojas	5 Hojas
Víptera	0	0	0	0	0	0
TD TG	96	14	9	27	23	23
MG	79	23	32	14	9	0
Power Cord	8	9	0	0	0	0
VT Triple Pro	32	14	5	5	10	0
Herculex	94	0	13	20	13	47
Convencional	100	6	13	38	31	0

Los resultados indican que, una vez estabilizada la cantidad de larvas por planta producto de la supervivencia por evento y mortalidad por canibalismo, la evolución del daño es progresivo hasta llegar a su tamaño máximo y empupar.

Conclusiones

Si bien algunos eventos incluidos en este ensayo fueron desarrollados con la finalidad de control de esta plaga los resultados demuestran que en cierto porcentaje las orugas toleran las toxinas que producen los distintos eventos. Esto marca una evidencia de resistencia de la plaga frente a algunos materiales que fueron corroborados en ensayos en laboratorio, no presentados en este trabajo.-

Estos resultados concuerdan con evidencias de daño de materiales a campo en distintas zonas de Chaco y Corrientes que han documentado daños de supervivencia de orugas con defoliaciones de importancia en los mismos eventos presentes en este ensayo.

La primer evidencia de resistencia en eventos simples ocurrió en Puerto Rico donde luego de haber sido liberados al mercado en el año 2003 aquellos conocidos como Herculex reportaron quiebre de resistencia al 3er año de su cultivo. Si bien para esa latitud reportan 10 generaciones por año y de haberse cumplido 30 generaciones de selección sobre ese material también reportaron que no cumplía el principio de alta dosis de la toxina, para las poblaciones locales, condición fundamental en el MRI.

Las preguntas que surgen para los distintos eventos presentes hoy en el mercado en Argentina son: ¿son necesarias un cierto número de generaciones para evidenciar casos de quiebre de resistencia?, ¿el principio de alta dosis se cumple para los distintos materiales en las plagas blanco para las diferentes zonas agroecológicas del país ?, ¿se conocía la frecuencia génica inicial de los individuos resistentes antes de la liberación de los eventos al mercado ?, ¿se respetan los refugios en las distintas regiones del país ?.

La resistencia es un proceso que naturalmente ocurre más aun cuando se expone a la plaga de manera constante a una misma toxina, la evolución de la misma o en otras palabras el retraso en su aparición depende del esfuerzo conjunto entre las empresas privadas, el estado y los productores.

Bibliografía

Aragón, J. 2002. Guía de reconocimiento y manejo de plagas tempranas relacionadas a la siembra directa

Carroll, M., Head, G y Caprio, M. 2012. When and where a seed mix refuge makes sense for managing insect resistance to Bt plants. Crop Protection. 5p

Frana, J.y J. Imwinkelried. 2002. Evaluación del daño provocado por la isoca cogollera, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz en diferentes épocas de siembra.

EEA INTA Rafaela. Proyecto 52-2102. En:Taller de discusión sobre

Spodoptera. Nov.2003. Bs.As. Pioneer- Dow AgroSciences.3p.

Lobos, E. 2003. Control preventivo del cogollero del maíz. Fac. de Agronomía y Agroindustrias. UNSE. S. del Estero. En: Taller de discusión sobre *Spodoptera.* Nov. 2003. Bs. As. Pioneer- Dow AgroSciences.4p

Niu, Y., Dangal, V. y Huang, F. 2014. Larval survival and plant injury of Cry 1F-susceptible, -resistant, and –heterozygous fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt corn containing single or pyramided genes. Crop Protection. 7p

Satorre, E. 2002. El cultivo de maíz como oportunidad para la sustentabilidad de la agricultura y sus empresas. En: Guía Dekalb del cultivo de maíz.

Tabashnik, B., Brevault, T. y Carriere, Y. 2013. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. Nature biotechnology.12p