

INTRODUCCIÓN GENERAL

Durante muchos años el genoma de los cultivos ha sido modificado por medio del mejoramiento genético clásico pero, en la actualidad, las técnicas se basan principalmente en la ingeniería genética. El desarrollo actual de la biotecnología, ha posibilitado la creación de organismos portadores de combinaciones de genes interespecíficos generalmente no disponibles en la naturaleza, a los cuales se los denomina organismos genéticamente modificados (OGM) Watson (2004).

Las plantas transgénicas implican la introducción y expresión de genes de una especie en el genoma de otra y se han desarrollado con el objetivo de resolver una diversidad de problemas, como la tolerancia a factores ambientales, el aumento en la calidad nutricional de los cultivos y, especialmente, la resistencia a plagas y enfermedades (Martínez, 2005).

La tecnología que permite la creación de cultivos resistentes a insectos, se basa en la expresión en las plantas de genes provenientes de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (*Bt*), los cuales codifican proteínas, llamadas δ -endotoxinas también conocidas como proteínas Cry, para el control de insectos, las que, una vez ingeridas, tienen propiedades tóxicas (Hegalsón, 2000).

La alta adopción de los cultivos *Bt* se debe a las ventajas que poseen. Entre ellas se pueden mencionar: la expresión de las proteínas se produce durante todo el ciclo de crecimiento del cultivo, por lo que no está sujeta a condicionamientos, como el momento de la aplicación, el lavado del producto por precipitaciones, además; se expresa en partes de la planta donde algunos plaguicidas químicos y biológicos no son capaces de llegar, otorgando así un control más efectivo (Permingeat & Margatit, 2005); se logran aumentos de la producción (Betz *et al.*, 2000); se reducen el número de las aplicaciones de insecticidas, retrasando la aparición de resistencia a los plaguicidas (Mascarenhas & Luttrell, 1997), permitiendo la conservación de los enemigos naturales en el medio (Orr & Landis, 1997; Gould *et al.*, 1998; Lozzia *et al.*, 1998). La especificidad de las toxinas hacia determinado grupo de insectos, permite un control de plagas específicas, sin mostrar toxicidad hacia otros integrantes del ecosistema (Betz *et al.*, 2000).

Sin embargo, existe una serie de cuestionamientos respecto de los posibles riesgos que pueden tener los cultivos transgénicos respecto a los artrópodos presentes en los agroecosistemas. Los principales riesgos ecológicos que presenta el uso comercial de cultivos transgénicos son:

a) que las plagas desarrollen rápidamente resistencia a los cultivos que contienen la toxina *Bt* (Gould, 1994; Tabashnik *et al.*, 1991; Brousseau *et al.*, 1999).

b) que el uso masivo de la toxina *Bt* en cultivos, puede desencadenar interacciones potencialmente negativas, que afecten a procesos ecológicos y a organismos benéficos en la cadena trófica, pudiendo disminuir la cantidad o calidad de los insectos plagas que constituye el alimento para sus depredadores (Orr & Landis, 1997; Hilbeck *et al.*, 1998a, 1998b, 1999; Losey *et al.*, 2004).

c) que las plagas secundarias emergentes de los cultivos transgénicos sólo podrían ser controladas con aplicaciones de insecticidas, lo que lleva a su vez a la eliminación de los enemigos naturales del medio (Sharma & Ortiz, 2000).

Las plantas transgénicas resistentes a insectos que expresan las toxinas derivadas de la bacteria *B. thuringiensis*, se comenzaron a comercializar a partir de mediados de 1990 (Bárcena *et al.*, 2004). Su uso está muy difundido en pocos países y en unos pocos cultivos. Aunque hay muchas plantas transgénicas, sólo unas pocas se cultivan a nivel comercial, como por ejemplo; soja, seguida por el maíz, el algodón y la colza. En el año 2006, 22 países sembraron 102 millones de hectáreas de OGM. El 98% del área global se concentró sólo en ocho países: Estados Unidos, Argentina, Brasil, Canadá, India, China, Paraguay y Sudáfrica (Graham & Barfoot, 2006).

LOS CULTIVOS TRANSGÉNICOS EN LA ARGENTINA

La tasa de adopción de plantas genéticamente modificadas (PGM), es una de las más altas en cuanto a las tecnologías en el sector agropecuario argentino, mayor inclusive a la observada años atrás con la incorporación de los híbridos. El informe de Clive (2012) señala que Argentina continúa siendo uno de los principales países productores de cultivos GM, con 23,9 millones de hectáreas en el año 2012 lo que

representa el 14% del área total de cultivos transgénicos. En la campaña 2012/2013 se continuó registrando una excelente adopción de maíz GM (estimada en un 90% del maíz total) y algodón GM (casi el 100% del total), con un aumento en ambos casos de la superficie sembrada con eventos acumulados (resistencia a insectos y tolerancia a herbicida). Por su parte, la soja tolerante a glifosato se mantuvo en casi el 100% del total, como en las campañas anteriores. (Fig. 1) (Clive, 2012).

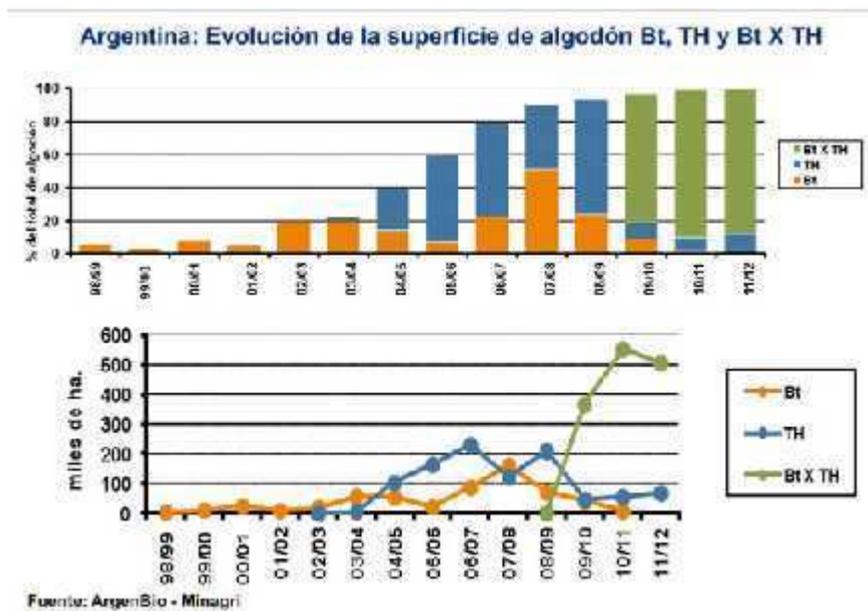


Figura 1: Evolución de la superficie sembrada de maíces GM con tolerancia *Bt* y a herbicidas (TH), y con características apiladas (Bt x TH), en Argentina.

EL MAÍZ *Bt*

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial para la alimentación humana y animal en muchos países (Zarkadas *et al.*, 1995). Se puede consumir como alimento humano de manera directa en forma de mazorca, choclo, harinas o en forma indirecta, se puede convertir industrialmente en productos con alto valor agregado como almidón, etanol, glucosa, fructosa, dextrosa y aceites, o como parte de la materia prima para la elaboración de productos industriales,

lo que demuestra su importancia en la nutrición y como componente básico para la seguridad alimentaria de cualquier país.

A nivel mundial, se cultivan más de 140 millones de hectáreas, con una producción anual de más de 800 millones de toneladas por lo que, actualmente, es la especie más cultivada después del trigo, mientras que el arroz ocupa el tercer lugar (FAO, 2012).

Una de las razones de su amplia distribución es la diversidad de ambientes bajo los cuales se cultiva, desde los 58° de latitud norte en Canadá y Rusia y hasta los 40° de latitud sur en Argentina y Chile, ya que está adaptado tanto a ambientes desérticos como a los extremadamente húmedos. Si bien la mayor superficie cultivada es a altitudes medias, podría expandirse a nuevas áreas y a nuevos ambientes, por tales motivos el maíz es considerado como una especie estratégica (Paliwal, 2001).

A pesar de esa flexibilidad, existen numerosos motivos por los cuales la productividad del cultivo se ve sensiblemente reducida. Entre esas causas se encuentran las plagas insectiles y en especial aquellas pertenecientes al orden Lepidoptera (Basset & Samuelson 1996). *Diatraea saccharalis* (Fabricius)(Lepidoptera: Pyralidae), cuyo estado larval es conocido popularmente como “barrenador del tallo”, es la plaga de mayor impacto económico en Argentina, y ocasiona en promedio pérdidas anuales de 170 millones de dólares (Iannone, 2002). La proteína *Cry* controla eficientemente a los lepidópteros plagas del maíz, especialmente a *D. saccharalis*, a los “gusanos de la mazorca” *Heliothis zea* (Boddie) y *Heliothis virescens* (Fabricius) y al “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda* (Smith).

El desarrollo de híbridos transgénicos que expresan la endotoxina insecticida, ofrece una nueva práctica de control para estas plagas. Los maíces *Bt* disponibles en el mercado argentino tienen como principal objetivo el control del “barrenador del tallo”. En la actualidad se dispone comercialmente de genotipos de maíz con 3 eventos *Bt*, Mon810 (MG), BT11 (TDMAX) y TC1507 (HX). MON810 y BT11 controlan eficazmente a *D. saccharalis* durante todo el ciclo del cultivo y, parcialmente, al “gusano cogollero” y la “isoca de la espiga”. El evento TC1507 permite, además del control de *D. saccharalis* y *Heliothis* spp., el de *S. frugiperda*, principal plaga en zonas

tropicales y subtropicales y, también parcialmente el de la “oruga grasienta” (*Agrotis ipsilon*)(Hufnagel).

Actualmente, el 39% del maíz cultivado en Argentina es *Bt* (1,59 millones de hectáreas). También, y con un crecimiento sostenido, se han cultivado en la campaña 2010/2011 híbridos que contienen dos características acumuladas: la resistencia a insectos y la tolerancia a glifosato, llegando a 1,64 millones hectáreas (40% del maíz total) (ArgenBio, 2012).

EXPRESIÓN DE LA TOXINA DEL *Bacillus thuringiensis*

La bacteria *B. thuringiensis* fue descubierta en 1901 por el investigador japonés Shigetane Ishiwata, causando mortalidad en las colonias del gusano de seda. Posteriormente, otra cepa fue aislada por Ernst Berliner a partir de una plaga de los graneros provenientes de la provincia alemana de Thüringen (Turingia), quien, debido a su origen, la clasificó como una nueva especie: *Bacillus thuringiensis*. Aunque la bacteria se utilizó como agente de control, su uso fue relegado debido, entre otras causas, a la aparición de los insecticidas químicos. No fue sino hasta los años 50 en que Edward Steinhaus reinició su estudio, comprobando su gran potencial como agente de control de plagas, y promoviendo su desarrollo industrial y comercial como bioinsecticida. Para 1959, ya existía en el mercado un producto comercial a base de esta bacteria (Thomas, 1984).

Bacillus thuringiensis forma parte de un complejo subespecífico de bacilos grampositivos que se desarrollan en condiciones aeróbicas. Generalmente se hallan presentes en el suelo, en concentraciones que varían entre 10^2 y 10^4 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo (Polanczyk & Alves, 2003). Bajo ciertas condiciones esporula, sintetizando una gran cantidad de proteínas codificadas por genes *Cry* que forman un cuerpo de inclusión cristalina. Dichas proteínas, llamadas *Cry*, presentan actividad insecticida (Polanczyk & Alves, 2003). Los genes insertados en el maíz *Bt* corresponden a *B. thuringiensis* var *kurstaki* (*Btk*) el cual expresa la toxina *CryIAb* de acción específica contra lepidópteros.

La diferencia que existe entre las toxinas expresadas por la bacteria y las contenidas en la planta es que en el primer caso son liberadas al ambiente como protoxinas, requiriéndose de la acción de un medio alcalino y enzimas (proteasas) para su activación mientras que, los cultivos *Bt*, la contienen en una forma activada (Groot & Dicke, 2002).

En condiciones naturales, el ingreso de las protoxinas al insecto se produce a través de la ingestión de polen, de partes verdes de la planta, de raíz o de granos, por ejemplo, y actúan a nivel del mesenterón o intestino medio (Polanczyk & Alves, 2003), pero deben ser activadas para poder tener efecto. Para que ello ocurra y, debido a que la proteína es altamente insoluble en condiciones neutras, necesita de un pH alto (9,5) presente en el intestino, en el que ocurre una proteólisis, causada por las enzimas estomacales del insecto (Knowles, 1994). En esta condición, se une a las células epiteliales del tubo digestivo, creando poros en la membrana celular que propician un desequilibrio de iones, especialmente por la pérdida de iones K⁺, que alteran la presión osmótica. La muerte del insecto se produce debido a una entrada masiva de agua al sistema digestivo que, finalmente se paraliza. Por último, las células epiteliales se lisan y disminuye el pH estomacal, por compensación con el pH sanguíneo. Esta condición hace posible que las esporas bacterianas germinen y puedan invadir el huésped causando una septicemia y daños en los tejidos. En las larvas afectadas, la cápsula de la cabeza puede aparecer deformada, se vuelven inactivas, flácidas, el contenido del cuerpo se torna marrón-negruzco, según se va descomponiendo (Hoffmann *et al.*, 1992) (Fig. 2) y, finalmente mueren, generalmente en unos días posteriores a la infección.

Se estima que en la actualidad existen unas 40.000 variedades de cepas *Bt* con especificidad para diferentes órdenes de insectos, dependiendo de la proteínas *Cry* que expresen (Bauer, 1995). A pesar de eso, sólo unas cuantas han sido utilizadas en el desarrollo de plantas transgénicas y, si bien existe una gran cantidad de PMG con los genes *Cry* de *B. thuringiensis*, sólo algunas han sido liberadas y explotadas comercialmente.

El uso de las plantas que, como el maíz, expresan una proteína de *B. thuringiensis*, puede ser consideradas como una táctica adicional para el control de las plagas, y son compatibles con los principios de manejo integrado de plagas (Fischhoff,

1996; Paoletti & Pimentel, 2000), este último concepto es fuente de debate, respecto a la compatibilidad de los organismos modificados genéticamente y el manejo integrado de plagas.

El efecto que el maíz genéticamente modificado causa en los organismos que no son objeto del control (‘no target’) fue estudiado tanto en condiciones de laboratorio (Dogan *et al.*, 1996; Hilbeck *et al.*, 1998a, 1998b; Lozzia *et al.*, 1998) como a campo (Orr & Landis, 1997; Pilcher *et al.*, 1997), sin embargo, pocos estudios han evaluado su efecto en una comunidad de insectos, como son los agroecosistemas (Lozzi, 1999).

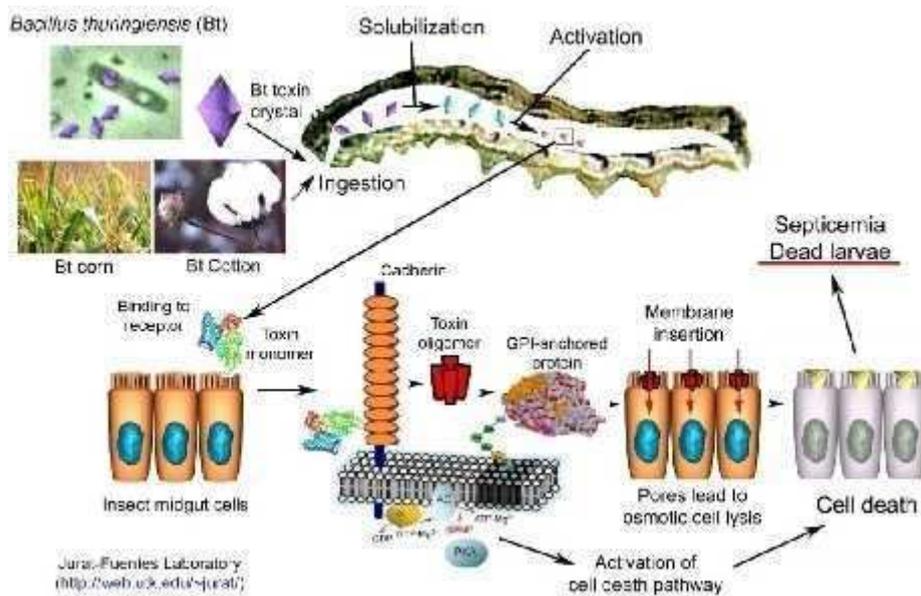


Figura 2: Acción de la toxina *Bt* en el insecto.

HIPÓTESIS

Para la realización de la presente Tesis se partió de las siguientes Hipótesis:

Hipótesis nula

Los maíces *Bt* ejercen una acción negativa, directa o indirecta, sobre los herbívoros “no-target” y sobre los enemigos naturales.

Hipótesis alternativa

Los maíces *Bt* no ejercen una acción negativa, directa o indirecta, sobre los herbívoros “no-target” y sobre los enemigos naturales.

Para respaldar la hipótesis alternativa se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

Generales

1-Determinar el impacto de los maíces *Bt* en la diversidad de los artrópodos que no son objeto del control.

2-Determinar el impacto de los maíces *Bt* sobre los enemigos naturales de pulgones y lepidópteros, plagas clave del cultivo de maíz.

Específicos

1. Determinar la incidencia de los áfidos plaga y de sus predadores y parasitoides, en ambos sistemas de cultivos.
2. Determinar la incidencia de las plagas del Orden Lepidoptera y sus parasitoides, en maíces no *Bt* y en maíces transgénicos *Bt*.
3. Cuantificar y comparar la biodiversidad de artrópodos benéficos de suelo de la Familia Carabidae y Araneae, en maíces *Bt* y convencionales.
4. Determinar la incidencia de otros artrópodos plagas y la aparición de plagas resurgentes en los maíces *Bt*.
5. Determinar el efecto de presas “target” y “non”target” sobre la supervivencia larval y la fecundidad y la fertilidad de *Eriopsis connexa*.

BIBLIOGRAFÍA

- ARGENBIO (2012). Paraguay autoriza por primera vez la siembra comercial de maíz GM. Disponible on line:<http://argenbio.org/index.php?action=notas¬e=6227>.
- BÁRCENA, A.; J. KATZ; C. MORALES & M. SCHAPE (2004). Los transgénicos en América Latina y el Caribe: Un debate abierto. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Santiago de Chile, 396 pp.
- BASSET, Y. & G. A. SAMUELSON (1996). Ecological characteristics of an arboreal community of Chrysomelidae in Papua New Guinea. In: Chrysomelidae Biology. Vol. 2. Ecological Studies. JOLIVET, P. H. A. & M-L. COX (Eds.), pp 243-262. Amsterdam: SPB Academic.
- BAUER, L. (1995). Resistance: a threat to the insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Florida Entomologist. 78: 414-443.
- BETZ, F.; B. HAMMOND & R. FUCHS (2000). Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected plants to control insect pests. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 32: 156-173.
- BROUSSEAU, R.; L. MASSON & D. HEGEDUS (1999). Insecticidal transgenic plants are they irresistible? AgBiotechNet. 1: 1-10.
- CLIVE, J. (2010). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). Ithaca, NY. No. 42. 25 pp.
- DOGAN, M. M.; M. UGUR; S. K. SOYSAL; M. E. SOYSAL; E. EKICI & O. GOKMEN (1996). Transvaginal sonographic diagnosis of ovarian endometrioma. Int. J. Gynaecol. Obstet. 52: 145-149.
- FAO. (2012). Perspectivas de cosechas y situación alimentaria. Disponible On line: <http://www.fao.org/giews/english/listserv.htm>.

- FISCHHOFF, D. A. (1996). Insect-resistant crop plants. In: PERSLEY, G. J. (Ed.). *Biotechnology and integrated pest management*. Wallingford: CAB International. Cap. 12, p. 214-227.
- HELGASON, E.; O. A. OKSTAD; D. A. CAUGANT; H. A. JOHANSEN; A. FOUET; M. MOCK; I. HEGNA & A-B KOLSTO (2000). *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*- One species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2627-2630.
- GOULD, F. (1994). Potential and problems with high-dose strategies for pesticidal engineered crops. *Biocontrol Science and Technology*. 4: 451-461.
- GOULD, F.; B. TABASHNIK; W. HUTCHISON; D. FERRO, D. ANDOW & M. WHALON (1998). Recommendations for developing and implementing resistance management plans for *Bt*-Toxin producing crops. In: MELLON, M. & J. RISSLER (Eds) *Now or never: serious new plans to save a natural pest control*. Union of Concerned Scientists Cambridge (USA).
- GRAHAM, B. & P. BARFOOT (2006). *GM Crops: The First Ten Years - Global Socio-Economic and Environmental Impacts*. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). Ithaca, NY. N° 36. 96 pp.
- GROOT, A. T. & M. DICKE (2002) Insect-resistant transgenic plants a multi-trophic context. *The Plant Journal*. 31: 387-406.
- HILBECK, A.; W. J. MOAR; M. PUSZTAI-CAREY; A. FILIPPINI & F. BIGLER. (1998a). Toxicity of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) using diet incorporated bioassays. *Environ. Entomol.* 27: 1255-1263.
- HILBECK, A.; M. BAUMGARTNER; P. M. FRIED & F. BIGLER (1998b). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27: 480-487.

- HILBECK, A.; W. J. MOAR; M. PUSZTAI-CAREY; A. FILIPPINI & F. BIGLER (1999). Prey-mediated effects of *CryIAb* toxin and protoxin and *Cry2A* protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomol. Exper. Appl.* 91: 305-316.
- HOFFMANN, M. P., F. G. ZALOM, L. T. WILSON, J. M. SMILANICK; L. D. MALYJ; J. KISER; V. A. HILDER & W. M. BARNES (1992). Field evaluation of transgenic tobacco containing genes encoding *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin or cowpea trypsin inhibitor. Efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* (85) (6): 2516-2522.
- IANNONE, N. (2002). Servicio técnico *Diatraea* en maíz. INTA Pergamino. Disponible On line: www.elsitioagricola.com/plagas/intapergamino/diatraea20020502.asp.
- ISAAA (2009). Brief Executive Summary: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2009-ISAAA.org, Disponible On line. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/41/executivesummary/default.asp>.
- KNOWLES, B. (1994). Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta-endotoxins. *Adv. Insect Physiol.* 24: 275-308.
- KRIMSKY, S. & R. WRUBEL (1996). Agricultural biotechnology and the environmental: science, policy and social issues. 2: 25-32. In: MOONEY, S. & D. GERARD. 2003. Using environmental bonds to regulate the risks of GM crops: problems and prospects. *Environmental Biosafety Res.* University of Illinois Press, Urbana and Chicago.
- LOSEY, J. E.; J. J. OBRYCKI & R. A. HUFBAUER (2004). Biosafety considerations for transgenic insecticidal plant: Non-target predators and parasitoids. In: *Encyclopedia of plants and crop Science* (ed. R.M.G), Marcel. Dekker, Inc, Nueva York. pp 156-159.
- LOZZIA, G.; C. FURLANIS; B. MANACHINI & I. RIGAMONTI (1998). Effects of *Bt* corn on *Rhopalosiphum padi* L. (Rhynchota, Aphididae) and on its predators

Chrysoperla carnea (Neuroptea, Chrysopidae). Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser II, 30 (2):153-164.

LOZZI, G. C. (1999). Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effects on non target insects. Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura. 31: 37-58.

MARTÍNEZ M. C. (2005) Laboratorio de detección de organismos genéticamente modificados. Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria. Disponible (http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc_2001/minicursos/pdf).

MASCARENHAS, V. J. & R. G. LUTTRELL (1997). Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environ. Entomol. 26(4): 939-945.

ORR, D. B. & D. A. LANDIS (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. J. Econ. Entomol. 90: 905-909.

PALIWAL, R. L. (2001). Introducción al maíz y su importancia In: El maíz en los trópicos. PALIWAL, GRANADOS, LAFFITE & VIOLIC (Eds). Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (F.A.O). Roma, 2001. Disponible On line: <http://www.fao.org/docrep/003/X7650S/x7650s00.html>.

PAOLETTI, M.G. & D. PIMENTEL (2000). Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. Journal of Agricultural and Environ. Ethics. 12: 279-303.

PERMINGEAT, H. & E. MARGARIT (2005). Impacto ambiental de los cultivos genéticamente modificados: el caso de maíz Bt. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias, No. 7.

- PILCHER, C. D.; J. J. OBRYCKI; M. E. RICE & L. C. LEWIS (1997). Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* 26: 446-454.
- POLANCZYK, R. & S. ALVES (2003). *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisao. *Agrociencia.* 7: 1-10.
- RISSLER, J. & M. MELLON (1996). The ecological risks of engineered crops. Cambridge, MA: MIT Press. 168 pp.
- SHARMA, H.C. & R. ORTIZ (2000). Transgenics, pest management, and the environment. *Current Science.* 79: 421-437.
- TABASHNIK, B.E.; N. FINSON & M.W. JOHNSON (1991). Managing resistance to *Bacillus thuringiensis*: Lessons from the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 84:49-55.
- THOMAS CLEMENT CHENG(1984) Pathogens of invertebrates: application in biological control and transmission mechanisms, *Society for Invertebrate Pathology Meeting Volume 7* page 159.
- WATSON, J, D.; T. A. BAKER; S. P. BELL; A. GANN; M. LEVINE & R. LOSICK (2004). «Molecular Biology of the Gene». *Benjamin Cummings* (Fifth edition edición) (San Francisco). ISBN 0-321-22368-3.
- ZARKADAS, P. C.; J. B. CARTER & E. B. BANISTER (1995). Modeling the effect of taper on performance, maximal oxygen uptake, and the anaerobic threshold in endurance triathletes. *Advances in Experimental Medicine and Biology.*393: 179-186.

CAPÍTULO 1

INCIDENCIA DE LOS ÁFIDOS PLAGAS Y DE SUS DEPREDADORES EN SISTEMAS DE CULTIVO DE MAÍZ *BT* Y NO *BT*

RESUMEN

Las toxinas de maíz *Bt* son altamente selectivas y específicas hacia los artrópodos “target” del control y, el impacto esperado sobre los “no blanco” se considera mínimo. Sin embargo, la producción continua de proteínas *Bt* por los tejidos de la planta durante todo el período de crecimiento puede resultar en un nivel de exposición que no ocurre con los insecticidas a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Los áfidos son uno de los herbívoros plagas más comunes del maíz y el efecto que podría ocasionar los híbridos *Bt* sobre ellos, los enemigos naturales y los artrópodos que se alimentan de la melaza que producen, han sido un motivo de preocupación. Se ha demostrado que los pulgones no ingieren la toxina *Bt* debido a que se alimentan del floema, donde ésta no se expresa, pero se ha encontrado información contrastante en relación al efecto sobre la entomofauna benéfica. El objetivo de este capítulo fue comparar el efecto de los maíces transgénicos sobre la población de los áfidos plaga y de sus depredadores y parasitoides. Los muestreos se realizaron a campo durante cinco campañas agrícolas: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010, en una explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (Pujato Norte), departamento Las Colonias (Santa Fe). Anualmente se sembraron 2 parcelas de maíz de 1 ha cada una: una con un híbrido que expresa la toxina Cry1Ab del *B. thuringiensis* y otra con un híbrido convencional. Los monitoreos consistieron en recuentos visuales y en el uso de trampas amarillas pegajosas. Los resultados muestran una mayor cantidad de áfidos en los maíces *Bt* debido, posiblemente, a una mayor concentración de aminoácidos. En relación a los enemigos naturales, si bien la diversidad fue semejante entre ambos cultivos, se registró una menor abundancia en el híbrido transgénico esto podría ser atribuible a la disminución en la emisión de señales químicas debido a un menor ataque en los cultivos *Bt*.

INTRODUCCIÓN

Las toxinas *Bt* son altamente selectivas y el impacto esperado sobre los artrópodos se considera mínimo (Naranjo, 2009), sin embargo, la producción continua durante todo el período de crecimiento, puede resultar en un alto nivel de exposición, que no ocurre con los insecticidas a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Los efectos imprevistos de la modificación genética en los cultivos, tanto sobre los artrópodos plaga como sobre los agentes de control biológico, también deben ser evaluados con el fin de poder garantizar su uso sustentable (Hellmich *et al.*, 2008).

Los áfidos son plagas comunes del maíz (Meissle *et al.*, 2010) y es una preocupación los efectos que las plantas genéticamente modificadas (PGM) pueden ocasionar sobre los enemigos naturales que se alimentan de la melaza (“honeydew”) que producen.

Los pulgones no ingieren la toxina *Bt* porque se alimentan del floema, donde ésta no se expresa (Raps *et al.*, 2001; Dutton *et al.*, 2002). Sin embargo, en ensayos a campo, se ha encontrado mayor cantidad de áfidos en los híbridos de maíz transgénicos, en comparación con los convencionales (Pons *et al.*, 2005). La razón de estos resultados según Faria *et al.* (2007), podría deberse a la variación en el contenido de aminoácidos en los cultivos transgénicos, que los hace más susceptibles a la infestación.

En Argentina son varios los pulgones que atacan al cultivo, siendo los más frecuentes los que pertenecen al género *Rhopalosiphum*, especialmente *R. maidis* (Fitch), más esporádica es *Macrosiphum avenae* (= *Sitobium avenae*) (Fabricius) y, otra de reciente aparición y cuyos ataques se expanden es *Sipha (Rungsia) maydis* Passerini.

El “pulgón del maíz”, *R. maidis*, fue citado por primera vez en la Argentina en el año 1923 por Blanchard (Tapia, 1947). Es plaga de los cereales en regiones de clima templado. Además del maíz se encuentra con frecuencia sobre el sorgo y la cebada, cuyos ataques, en éste último, se han incrementado en los últimos años, aunque en los cultivos comerciales no producen daños económicamente importantes.

El “pulgón negro de los cereales” (*S. maydis*) fue detectado en nuestro país en el año 2002, en las provincias de Córdoba (Delfino, 2002), Mendoza (Ortego & Difabio,

2002) y Entre Ríos (Saluso, 2002). Las colonias se establecen normalmente en la cara superior de las hojas basales, próximas a la inserción con el tallo (Delfino, 2002; Saluso, 2002) aunque, cuando las poblaciones son elevadas, pueden encontrarse en el envés de las hojas y en las hojas bandera. Debido a su reciente aparición aún no se han cuantificado los daños directos que pudieron ocasionar (Saluso, 2002).

El “pulgón de la espiga” (*M. avenae*) es monoica holocíclica en gramíneas y es una de las plagas que más daño ocasiona a cereales como trigo, cebada, maíz, centeno, entre otros (Nieto Nafría & De Benito Dorrego, 1976). En altas densidades poblacionales provoca daños de importancia y es, además trasmisor de virosis.

Los enemigos naturales poseen un papel importante en la reducción de las poblaciones de áfidos (Starý, 1976; Van Emden, 1995). Los efectos sobre los depredadores afidófagos (Familia Coccinélidas o Sirphidae o sobre los generalistas que se alimentan de áfidos (heterópteros, arácnidos, coccinellidos) han sido evaluados en condiciones de campo, sin que se hallaran diferencias en su abundancia y su desempeño como controladores biológicos en maíz *Bt* y la línea isogénica (De la Poza *et al.*, 2005). A iguales conclusiones llegaron Pons & Stay (2003), sobre la diversidad y la abundancia de parasitoides.

Las interacciones entre los cultivos transgénicos y los enemigos naturales puede ser positiva, negativa o neutra (Schuler *et al.*, 1999), con posiciones encontradas en este aspecto. Algunos autores, como O’Callaghan *et al.*, (2005) opinan que las toxinas sólo tienen efectos directos en la especie “target” perteneciente a los órdenes Lepidoptera y Coleoptera. Sin embargo podrían afectar a los enemigos naturales, ya sea en forma directa, por presencia en la presa o el huésped, por la ingestión de parte de la planta o por las consecuencias de dosis subletales en las que alteran la calidad de la presa y, en forma indirecta por los cambios en sus poblaciones, afectando su propia dinámica poblacional y/o comportamiento, con consecuencias sobre su densidad, distribución espacial, flujo génico.

Los depredadores en general tienen un amplio rango de presas y actúan dentro de un contexto de múltiples especies. Su fisiología y su comportamiento están influenciados tanto por los herbívoros como por las plantas (Vet & Dicke, 1992). Por lo

tanto, es importante comprender el efecto que las plantas genéticamente mejoradas (PGM) pudieran tener sobre el tercer nivel trófico.

La exposición de los depredadores a la toxina de las PGM incluye no sólo el consumo directo de presas (Schuler, 1999; Goot & Dicke, 2002). Los principales riesgos se relacionan con el consumo de herbívoros que se alimentan de plantas con la toxina en sus tejidos, así como por desempeño como potenciales agentes de control biológico, al alimentarse de presas de menor tamaño o calidad nutricional.

La intoxicación por *Cry* es más peligrosa cuando las presas no son susceptibles, ya que ésta permanece en el cuerpo (Groot & Dicke, 2002), mientras que en los insectos “blanco” la toxina se une a receptores del mesenterón, donde se reestructura y pierde toxicidad (Masson *et al.*, 1999). Otro efecto negativo es que puede acumularse en los tejidos, como por ejemplo, según Harwood *et al.*, (2005), de los nábidos, antocóridos, coccinélidos, carábidos y las arañas.

Muchas chinches depredadoras completan la dieta con polen (Harwood *et al.*, 2005). En *Orius insidiosus* (Say), no se han encontrado efectos negativos ni en su supervivencia ni en otros parámetros poblacionales cuando se encuentran en contacto con maíces Bt (Al-Deeb *et al.*, 2001; Harwood *et al.*, 2005; Pilcher *et al.*, 2005). En los coleópteros el consumo de la toxina se da por la ingesta completa de las presas y, en su carácter de grupo megadiverso, que se alimenta de prácticamente todos los niveles tróficos, los convierte en candidatos ideales para el estudio de riesgos en maíz Bt.

Otro grupo importante en el control de insectos perjudiciales son los neurópteros. Si bien Pilcher *et al.*, (2005) no han encontrado diferencias en la abundancia *in situ* de *Chrysoperla carnea* (Stephens) en cultivos Bt y no Bt, una serie de trabajos en laboratorio demostraron un aumento significativo en la mortalidad y un retraso en el desarrollo cuando consumieron presas criadas sobre plantas transgénicas (Hilbeck *et al.*, 1998a, 1988b, 1999). Además la dieta de los adultos de *Chrysoperla* sp. Se conforma de polen y néctar, por lo que son atraídos por los maíces en anthesis (Pilcher *et al.*, 2005).

No existen evidencias de intoxicación aguda para la mayoría de los depredadores. Al-Deeb & Wilde (2003) encontraron que, los maíces genéticamente

modificados para el control de *Diabrotica virgifera* Le Conte (Coleoptera: Chrysomelidae), no tuvieron efectos deletéreos sobre insectos benéficos. A similares conclusiones llegaron Moar *et al.* (2003) y Naranjo & Ellsworth (2002) en estudios realizados en otros cultivos.

A gran escala, la adopción de cultivos transgénico puede reducir la población de la plaga y, por ende, de sus parasitoides. Sisterson & Tabashnik (2005) utilizaron un modelo de dinámica poblacional para estudiar los efectos de los maíces *Bt* sobre la persistencia de los parasitoides y concluyeron que, una vez eliminados regionalmente, la probabilidad de que su población vuelva a incrementarse depende de la rotación de cultivos *Bt* y no *Bt*. Sin embargo, los resultados sobre la abundancia de parasitoides en ambos cultivos son contradictorios (Pilcher *et al.*, 2005; Orr & Landis, 1997).

Las plantas poseen defensas químicas facultativas o inducidas. Es decir que sintetizan y emiten aleloquímicos en respuesta al daño y a las secreciones salivales de los herbívoros, que generalmente son compuestos volátiles. Estos compuestos se almacenan en los tejidos, se liberan cuando se produce el daño (De Moraes *et al.*, 2000) y atraen a los parasitoides (Shiojiri *et al.*, 2002; Lo Pinto *et al.*, 2004). En las PGM al presentar menores daños, la densidad poblacional disminuye (Dean & De Moraes, 2006) porque migran hacia aquellos cultivos que emiten señales (Johnson, 1997). Además, estas sustancias pueden afectar la supervivencia, el desarrollo, la morfología y el tamaño de los adultos (Barbosa *et al.*, 1999). Las plantas de tabaco, algodón y maíz producen compuestos volátiles en respuesta a los daños causados por lepidópteros, que influyen a *Cardiochiles nigriceps* (Viereck), parasitoide que puede discriminar entre los compuestos químicos producidos por las plantas atacadas por distintos insectos plagas (De Moraes *et al.*, 1998). Este es un ejemplo de la interacción sofisticada existente, ya que abarca a los herbívoros, al vegetal, y sus compuestos y a los parasitoides (De Moraes *et al.*, 2000).

OBJETIVO

Determinar como los cultivos genéticamente modificados inciden sobre las poblaciones de los áfidos del maíz, sus depredadores y sus parasitoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos a campo se realizaron durante cinco campañas agrícolas consecutivas los que estuvieron comprendidos entre los años: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010 en una misma explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (31° 30' S 60° 55' W) en la localidad de Pujato Norte, departamento Las Colonias (Santa Fe).

Anualmente se sembraron 2 parcelas de 1 ha, con una distancia entre ambas de 15m. Una de las parcelas se sembró con un híbrido de maíz *Bt* (AX 886 MG) que expresa la toxina Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* Berlinery otra con un híbrido convencional (892CL), ambos del criadero Nidera. Las siembras se realizaron con una distancia entre surcos de 0,70 m. Las fechas en que se realizaron las siembras en cada campaña agrícola se detallan en el Cuadro 1.1. En ambos lotes anualmente se realizaron tratamientos con herbicidas de pre-siembra (Atrazina y Glifosato) y post emergencia (Iodosulfuron + Foramsulfuron y Sulfonilureas).

Cuadro 1.1: Fechas de siembra de los maíces *Bt* y no *Bt*, en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.

Campaña	Fecha de siembra
2005-2006	14 de octubre
2006-2007	29 de septiembre
2007-2008	25 de septiembre
2008-2009	20 de septiembre
2009-2010	15 de octubre

Recuento de artrópodos

1- Recuento visual

Teniendo en cuenta las características del cultivo se estimó que la mejor forma de llevar a cabo este estudio era por un lado, mediante conteo directo de los artrópodos sobre la planta (Castañera *etal.*, 2004) y por otro con trampas pegajosas.

El recuento visual es un método de muestreo absoluto mediante el cual se logra identificar y cuantificar la fauna existente sobre la planta. Se determinaron dos tratamientos (no *Bt* y *Bt*), con un diseño completamente aleatorizado. Mediante sorteo se estipuló la planta de inicio de los recuentos en cada lote (iniciando los muestreos cada semana de un margen diferente del lote), a partir del cual se muestrearon 15 plantas consecutivas en el surco. La unidad de muestreo fue la planta completa. De cada planta se examinaron detalladamente las hojas, el tallo y, en la etapa reproductiva, la inflorescencia panoja y la mazorca. Con la finalidad de evitar el efecto de la vegetación presente de los bordes, los sorteos se iniciaron dejando 10 m en cada margen del lote. Los muestreos se realizaron con frecuencia semanal desde la siembra hasta la cosecha del cultivo.

Se llevaron registros de los artrópodos presentes, y de su estado de desarrollo (huevo, ninfa o larva, pupa y adulto), tanto los fitófagos como los enemigos naturales. Siempre que fue posible los ejemplares adultos fueron identificados a campo, caso contrario fueron colocados, individualmente, en frascos con alcohol 70%, debidamente rotulados, para su posterior identificación en el laboratorio.

2- Trampas pegajosas

Las trampas pegajosas se emplearon con la finalidad de atrapar insectos alados de difícil observación y captura mediante el método visual. Las mismas consistieron en cartones de color amarillo con pegamento (marca comercial Subin), de 15 cm de ancho por 25 cm de largo. Las trampas se colocaron a partir de la sexta hoja del maíz, colgadas sobre el estrato vegetal, de esta manera se mantuvieron siempre ubicadas en el tercio superior de la planta. En cada lote se colocaron cuatro trampas equidistantes (Manachini *et al.*, 1999) (Fig. 1.1), las que semanalmente fueron reemplazadas y llevadas a laboratorio para la identificación de los artrópodos capturados.



Figura 1.1: Disposición de las trampas pegajosas en los lotes de maíz Bt y no Bt, indicando los metros que se dejaron en los bordes de los mismos.

Determinación taxonómica de los áfidos presentes

Las determinaciones de las especies, cuando fue posible se realizaron a campo pero, en caso de dudas se tomaron muestras de individuos los que fueron colocados en frascos de cierre hermético Eppendorf® (1,5 mm) con alcohol 70° y debidamente rotulados, para su posterior identificación taxonómica. Para ello bajo lupa estereoscópica de 40x (Olympus SZ40) se utilizaron las claves de: Quintanilla (1979); Nieto Nafría & Mier Durante (1984); Remaudiere & Seco Fernández (1990); Nieto Nafría *et al.* (1994); University of California. Agriculture and Natural Resources (2010) para determinar género y especie.

Determinación taxonómica de enemigos naturales presentes

Depredadores

Los depredadores de áfidos se monitorearon sobre las mismas plantas sorteadas, para cada lote, utilizando el método visual y de trampas pegajosas. En ambos casos se

llevó registro del número, del estado de desarrollo y de las especies. Los estados inmaduros se alimentaron con pulgones provenientes de crías en laboratorio, hasta la obtención de los adultos, bajo condiciones registradas de temperatura (25 ± 3 °C), de fotoperíodo (14+10 horas de luz+oscuridad) y de humedad (65 ± 5 % de HR). Tanto los adultos provenientes de las crías, como los recolectados en el campo se conservaron individualmente en frascos con alcohol 70°y se identificaron taxonómicamente mediante lupa estereoscópica de 40x (Olympus SZ40) utilizando para ello las guías de identificación por órdenes según:

Coleptera: Coccinéllidos: Saini (1985a); Majerus & Kearns (1989); Saini y De Coll (1996); Gonzáles (2009); Hemipteros: Salas (1995); Saini (1985b); Saini (1988), Saini y De Coll (1995); Dipteros:Sírfidos: Saini y Greco (1992), Saini y De Coll (1996); Arañas: Foelix (1982), Kaston (1978); Neurópteros:Gonzales *et al.*, (2012). Otros organismos: Barrientos (1988); Rupert & Barnes (1996).

Parasitoides

En el caso de los parasitoides de áfidos los monitoreos se realizaron visualmente sobre las mismas plantas sobre las que se realizaron los recuentos de pulgones. Se llevaron registros de la cantidad de pulgones sanos y de los parasitados por microhimenópteros, los que se determinaron por la presencia de la “momia” característica. En ataques severos se recolectó el 10% de los pulgones parasitados, pero en todos los casos fueron colocados en frascos plásticos, individualizados según la planta de procedencia, cultivo y fecha de recolección y llevados a la cámara de cría, donde fueron mantenidos bajo las condiciones antes mencionadas. Las “momias” se colocaron individualmente en tubos plásticos Eppendorf® (1,5 mm) hasta la obtención de los adultos, los que, una vez emergidos se los colocó alcohol 70° para luego ser identificados, bajo lupa esterescópica de 40x (Olympus SZ40). Se utilizaron las obras de Goulet & Huber (1993); Starý (1976), Starý (1979).

Determinación de índices ecológicos

Para el caso de los enemigos naturales se calcularon distintos índices ecológicos. A partir de las identificaciones de los distintos taxones provenientes de los muestreos, se confeccionaron tablas de abundancia relativa de las especies, agrupadas en los taxones Orden y Familia.

Se calcularon índices de diversidad Alfa, que hace referencia a la diversidad local dentro de una comunidad e índices de la diversidad Beta, la cual representa el cambio en la diversidad entre dos o más comunidades. Se estimaron los siguientes índices ecológicos (Martínez *et al.*, 2009; Armendano & González, 2010), para la diversidad Alfa: 1) Índice de Abundancia Relativa, 2) Índice de diversidad de especie, 3) Índice de Equidad de Shannon, y para la diversidad Beta: 5) Índice de Bray & Curtis.

1-Abundancia relativa

Representa el porcentaje de una especie sobre el total, incluyendo a todas las especies o familias observadas.

2-Diversidad de especies

Se aplicó el índice de Shannon-Wiener (H'), uno de los índices más utilizados en ecología (Ludwig & Reynolds, 1989), utilizado para caracterizar la diversidad de especies en cada híbrido (*Bt* y *no Bt*), el que se estima según la siguiente ecuación:

$$\text{Shannon-Weiner} \quad H' = -\sum p_i \ln p_i \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

p_i = proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de las especie i : ($p_i = n_i/N$))

n_i = número de individuos de la especie i

N = número total de individuos de todas las especies ($\sum n_i$)

3-Índice de equidad de Shannon (E_H)

El índice de equidad Shannon se basa en la probabilidad de encontrar un determinado individuo en un ecosistema. El índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (abundancia) (Magurran, 2001).

Este índice indica que tan uniformemente están distribuidos los individuos entre las especies (Newman & Unger, 2003), dicho de otro modo, compara la diversidad observada en una comunidad con la diversidad máxima posible de una comunidad hipotética, con el mismo número de especies.

$$E_H = \frac{H'}{\ln S} \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde: S es el número de especies (riqueza) y H' el índice de diversidad de Shannon. (ver Ecuación 2)

Se alcanza la uniformidad cuando $p_i = 1/S$ para toda p_i , máxima, siendo p_i la proporción del número de individuos de la especie i con respecto al total (n_i/N) (Franco *et al.*, 1989). Asume valores entre 0 y 1, en donde cuanto más cercano a 1 es el valor, mayor es la uniformidad.

4-Índice de Bray & Curtis

Mide la similitud cuantitativa entre dos comunidades, toma valores iguales a 1 en casos de similitud completa, e igual a 0 si las comunidades son disímiles y no tienen especies en común, se calcula mediante la siguiente expresión matemática:

$$I_{BC} = 1 - \frac{\sum |x_i - y_i|}{\sum (x_i + y_i)} \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde x_i es la abundancia de la especie i en una comunidad e y_i la abundancia de esa especie en otra comunidad.

Análisis de los datos

Los datos se analizaron estadísticamente con el programa InfoStat (versión 2011). Para determinar diferencias entre tratamientos se realizó un test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados.

RESULTADOS

Incidencia de áfidos

Se hallaron un total en los cinco años de muestreos de 10.268 áfidos, de los cuales 4.879 se registraron en los maíces no *Bt* y 5.389 en el híbrido transgénico (Fig. 1.2). Los individuos ápteros representaron el 57,0% de los recuentos en los maíces no *Bt* y el 59,0 % en el híbrido transgénico. El 87,5% de los individuos alados se recolectaron mediante las trampas pegajosas, mientras que los restantes, junto a las colonias de pulgones ápteros, mediante los recuentos visuales.

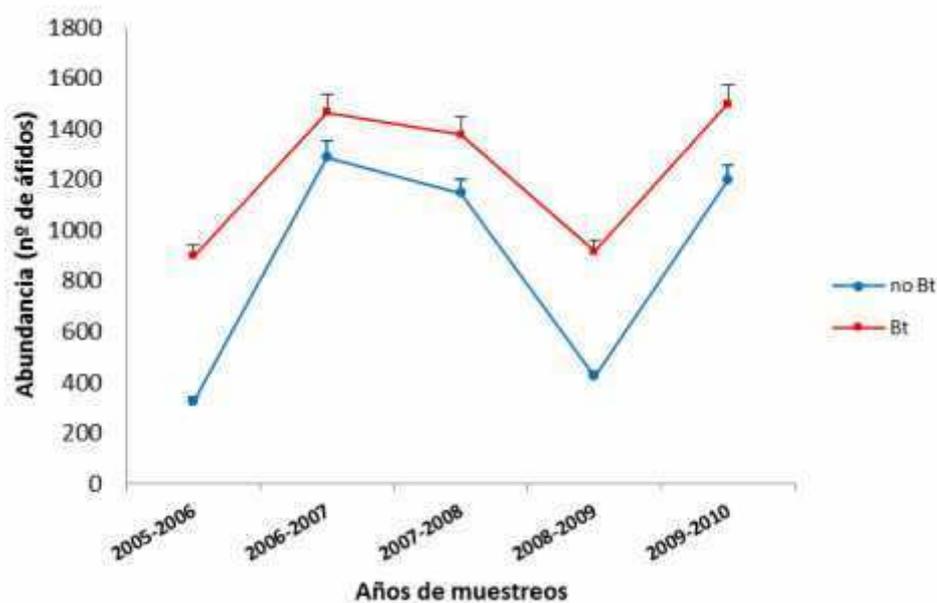


Figura 1.2: Abundancia Total (\pm D.E) de áfidos recolectados, por campaña agrícola, en los maíces *Bt* y no *Bt*.

Las especies más abundantes fueron *R. maidis* y *S. maydis* y, en menor proporción *S. avenae*. El “pulgón del maíz” presentó una mayor abundancia relativa, con respecto a las restantes especies, con el 57,0 y 54,0 % para el híbrido Bt y el convencional, respectivamente, en tanto que para *S. maydis* y *S. avenae* los porcentajes fueron 23,0 y 19,0 % respectivamente, para el híbrido transgénico y de 25,0 y 20,0% en el convencional (Fig. 1.3). No existieron diferencias entre los híbridos para cada una de las especies encontradas.

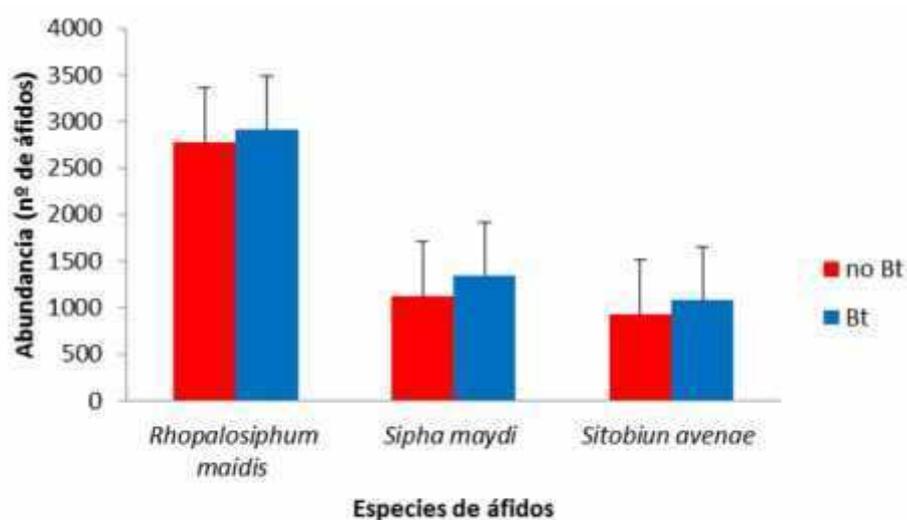


Figura 1.3: Abundancia total (\pm EE), por especies de áfidos, en los maíces Bt y no Bt observada en todas las campañas agrícolas.

En cuanto a la dinámica poblacional, *R. maidis* se presentó en colonias aisladas al comienzo del cultivo, representada en su mayoría por individuos alados, de los cuales pocos desarrollaron colonias. La mayor abundancia se dio en estado vegetativo, a partir de la sexta hoja, con los mayores recuentos en el cogollo de las plantas. Un nuevo pico poblacional se dio en la etapa reproductiva, con colonias en la última hoja e inflorescencias, masculina y femenina (Fig. 1.4).

Siphya maydis tuvo una distribución más irregular con colonias establecidas en las hojas de la parte inferior del tallo. Los recuentos disminuyeron hasta mediados de noviembre, momento a partir del cual comenzó a aumentar nuevamente, observándose colonias en las inflorescencias masculinas. En *S. avenae* se observó que las colonias se establecieron a partir de la emergencia de las plántulas y se mantuvo observándose un

pico poblacional durante los meses de octubre, noviembre y parte de diciembre, para decaer en enero. En otoño se observó una nueva aparición (Fig.1.4). Las fluctuaciones poblacionales fueron similares en los dos tipos de híbridos.

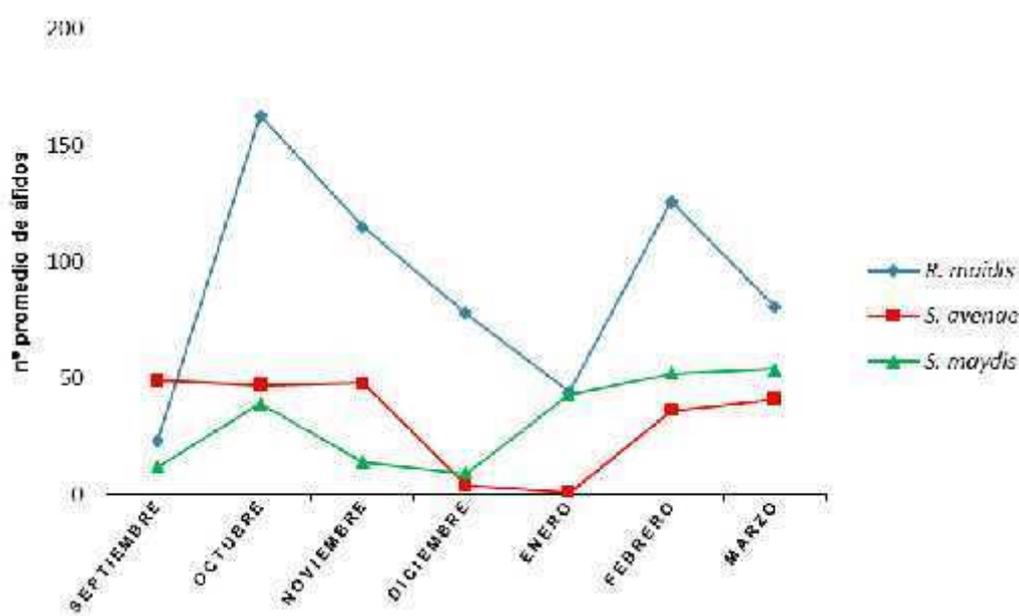


Figura 1.4: Curva poblacional de las especies *R. maidis*, *S. maydis* y *S. avenae*. Valores promedios de las campañas agrícolas y de los híbridos Bt y no Bt.

Un primer pico poblacional de los áfidos se dio entre los meses de octubre y noviembre, con el mayor pico poblacional de *R. maidis*, cuando la planta se encontraba entre los estado vegetativo V₄ y V₆ y la calidad de las plantas es la propicia para el desarrollo de las colonias de áfidos. Luego de este pico y con el crecimiento del cultivo las poblaciones manifestaron un marcado descenso, en los meses de verano, aparentemente muy afectados por las altas temperaturas. *S. maydis* fue la única especie

que pudo mantener sus poblaciones durante los meses de enero y febrero, ubicándose en las hojas más viejas y en la parte inferior de los tallos. Un segundo pico de esta especie se dio en la etapa reproductiva, entre fines de febrero principios de marzo, ubicándose las poblaciones en la última hoja y en las inflorescencias masculinas principalmente, con un aumento también de las restantes especies.

Incidencia de los enemigos naturales

Dentro de los artrópodos enemigos naturales de los áfidos se recolectaron un total de 17.965 y 8.584 para el híbrido no *Bt* y *Bt*, respectivamente, distribuidos en 9 familias de depredadores y una de parasitoides. La abundancia de los enemigos naturales fue un 94,0% mayor en los híbridos no *Bt*. Existieron diferencias significativas según el test no paramétrico de Mann-Whitney el cual arrojó un valor de ($p=0,004$).

Depredadores

Se recolectaron 13.588 individuos en los maíces convencionales y 5.986 en los *Bt*, siendo las principales familias de depredadores generalistas Coccinellidae, Anthocoridae, Syrphidae y Chrysopidae. Un grupo importante recolectado, principalmente en la parte aérea estuvo representado por las arañas, agrupadas en las siguientes familias: Thomisidae, Lycosidae, Oxyopidae, Araneidae y Anyphanidae.

En los maíces *Bt* el 27,0% de los artrópodos benéficos perteneció a la familia Anthocoridae, con el representante *Orius* sp., el 23,0% correspondió a la familia Coccinellidae identificándose a las especies *Eriopsis connexa*, *Cycloneda sanguínea* y *Coccinella ancorallis*; el 21,0% a la familia Chrysopidae con un único representante *Chrysoperla* sp. y el restante 15,0% a Syrphidae, con dos especies identificadas, *Allograpta exotica* y *Pseudodorus clavatus*.

En los maíces convencionales la mayor abundancia relativa fue también para *Orius* sp., con el 27,0%, seguido por la familia Coccinellidae con el 22,0%, Chrysopidae con el 17,0%, siguiendo en importancia Syrphidae 16,0%. En los coccinélidos la

especie más numerosa fue *E. connexa* con una abundancia relativa del 66,6%, luego *C. sanguinea* con el 24,5% y *C. ancorallis* en un 8,8%, con una relación de abundancia similar en ambos cultivos.

La familia Anthocoridae tuvo una abundancia 121% mayor en los maíces no Bt., también Coccinellidae, Syrphidae y Chrysopidae, fueron superiores en este híbrido en un 134,5, 163,7 y 93%. Para todas las familias existieron diferencias significativas en la abundancia de depredadores entre los maíces no Bt y Bt, según el test de Mann-Whitney, el cual arrojó un valor de $p=0,0286$ (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2: Abundancia promedio por año (\pm D.E.) de depredadores presentes en los maíces no Bt y Bt, durante los cinco años de muestreos.

	no Bt	Bt
ANTHOCORIDAE	853 a $\pm 89,87$	384,8 b $\pm 51,44$
COCCINELLIDAE	736,4 a $\pm 137,27$	314 b $\pm 67,23$
SYRPHIDAE	545,4 a $\pm 207,97$	206,8 b $\pm 92,87$
CRYSOPIDAE	562,8 a $\pm 164,33$	291,6 b $\pm 87,25$

*Letras iguales en las columnas no son significativamente diferente ($\leq 0,05$) según el Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas.

A diferencia de lo observado en los insectos, los arácnidos tuvieron una distribución similar en ambos híbridos, siendo un 6,0% mayor en los maíces transgénicos. La familia más abundante fue Thomisidae (37,0% y 52,0% en los híbridos no Bt y Bt, respectivamente), seguida por la familia Lycosidae (31,0% y 19,0%, en el maíz convencional y transgénico, respectivamente) (Cuadro 1.3).

Analizando según los métodos de muestreos empleados en los híbridos no Bt los antócoridos y coccinélidos presentaron una distribución semejante entre las observaciones directas y las trampas pegajosas, en cada caso ambas familias tuvieron una abundancia próxima al 50,0%. En el caso de las “vaquitas” la mayor cantidad de observaciones correspondieron al método visual ya que en planta se hallaron el 64,5% de las larvas, 30% de los adultos, el resto correspondió a los desoves. Algo similar

ocurrió con los neurópteros (60,9% de las observaciones en las plantas) (Cuadro 1.3), correspondiendo el 85,0% y el 15,0% a los estados de huevo y larvas. En cuanto a las arañas en su totalidad fueron recolectadas sobre las plantas mediante los recuentos visuales.

Cuadro 1.3: Abundancia por familia, en observaciones directas y con trampas pegajosas, en los cultivos no Bt (A) y Bt (B).

Familias de depredadores	Maíces no Bt		Maíces Bt.	
	Observaciones directas	Trampas pegajosas	Observaciones directas	Trampas pegajosas
Anthocoridae	2215	2150	855	1069
Coccinellidae	1942	1740	858	712
Syrphidae	194	2533	270	764
Chrysopidae	1714	1100	1028	430
Thomisidae	508	0	821	0
Lycosidae	431	0	311	0
Oxyopidae	262	0	99	0
Araneidae	69	0	272	0
Anyphaenidae	82	0	62	0

Parasitoides

Respecto al parasitismo efectivo en los áfidos, se contabilizaron en el campo un total de 2.829 pulgones sobre las plantas en los maíces no Bt y 3.071 en los transgénicos, de los cuales solo el 6,0% y el 8,0% estuvieron parasitados, respectivamente. El género identificado fue *Aphidius* spp. (Hymenoptera: Braconidae, Aphidini).

Determinación de índices ecológicos para los enemigos naturales

El Índice de Abundancia Relativa, dentro de la diversidad Alfa, se aplicó para las especies más abundantes. Dentro de los insectos depredadores los mayores valores correspondieron a *Orius* spp., *Chrysoperla* spp. y *E. connexa* (Cuadro 1.4). Tanto los insectos como las familias de arañas tuvieron mayor abundancia relativa en el híbrido convencional.

Para la determinación la diversidad en ambas comunidades de artrópodos benéficos se utilizó el índice de Shannon-Wiener (H') el cual dio como resultado una diversidad similar entre ambas comunidades, teniendo valores de $H' = 2,709239$ para los

maíces no *Bt* y de $H' = 2,672584$ para los maíces *Bt*. Algo similar sucedió con el índice de equidad de Shannon, que fue de $E_H = 0,88$ y $E_H = 0,87$ en el cultivo no *Bt* y *Bt*, respectivamente, lo que indicaría que la abundancia de las distintas especies es bastante equitativa sin que ninguna de ellas tenga una abundancia dominante sobre las otras.

En cuanto a la diversidad Beta se determinó la similitud entre las dos comunidades mediante el índice de Bray y Curtis (I_{AB}), el cual con un valor de 0,79, está indicando que las comunidades de artrópodos benéficos, en ambos maíces, si bien son similares en diversidad, presentan una diferencia en la abundancia de los mismos en cada una de las comunidades.

Cuadro 1.4: Abundancia relativa de las principales especies y familias de artrópodos benéficos, en los maíces no *Bt* y *Bt*.

Familia	Especie	Abundancia relativa no <i>Bt</i>	Abundancia relativa <i>Bt</i>
Anthocoridae	<i>Orius</i> spp.	16,70	14,00
Coccinellidae	<i>E. connexa</i>	9,10	8,10
	<i>C. sanguinea</i>	3,60	2,50
	<i>C. ancorallis</i>	1,30	0,91
	<i>A. exotica</i>	6,00	4,30
Syrphidae	<i>P. clavatus</i>	4,30	3,20
	<i>Chrysoperla</i> spp.	10,70	10,40
Thomisidae	<i>sp.1, sp.2, sp.3, sp.4.</i>	1,90	3,00
Lycosidae	<i>sp.1, sp.2, sp.3, sp.4, sp.5.</i>	1,60	2,20
	<i>sp.1, sp.2, sp.3.</i>	1,00	2,00
Araneidae	<i>sp.1, sp. 2, sp.3.</i>	0,26	0,73
Anyphaenidae	<i>sd.</i>	0,31	0,45
Otras familias		35,2	47,3
Total		100	100

Análisis de las poblaciones según las campañas agrícolas

Al analizar las poblaciones de los áfidos y de los enemigos naturales durante los cinco años de muestreos, es necesario considerar las precipitaciones, ya que durante algunos ciclos estudiados las sequías afectaron seriamente al cultivo. Como se observa en el Cuadro 1.5 las precipitaciones mensuales en la región centro de la provincia de Santa Fe, en las campañas 2005-2006 y 2008-2009 estuvieron muy por debajo de las medias de las restantes, sobre todo en los meses críticos para el cultivo de maíz.

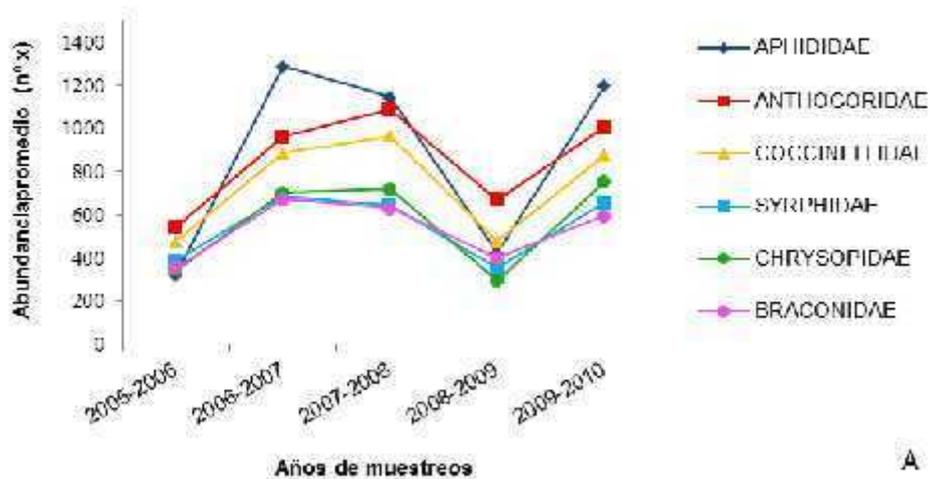
Cuadro 1.5: Precipitaciones mensuales (mm) en las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2009-2010; durante el ciclo del maíz.

Campaña agrícola	Precipitaciones mensuales (mm) en la localidad de Sauce viejo							
	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
2005-2006	18,29	86,61	4,06	36,34	71,63	30,23	127,01	117,85
2006-2007	4,57	77,21	101,86	311,90	57,67	94,25	558,79	58,17
2007-2008	99,83	124,21	13,21	120,16	102,11	87,64	35,81	49,78
2008-2009	41,40	90,17	83,06	29,73	25,65	135,13	156,22	42,16
2009-2010	111,01	63,00	471,67	309,62	111,24	261,88	184,40	113,02

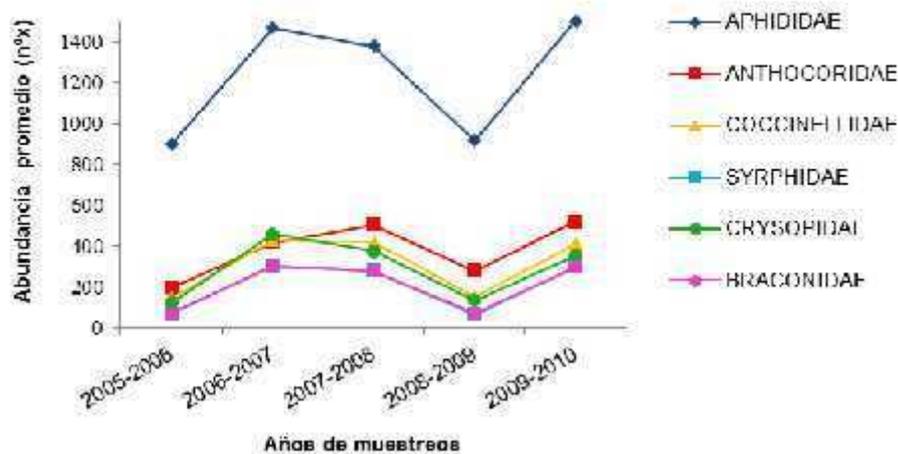
Fuente: tu tiempo.net

La densidad de la familia Aphididae varió entre los 300 individuos en los años secos y 1.400 individuos en los años con lluvias normales en los maíces no *Bt*, mientras que en los *Bt* los valores oscilaron entre los 600 y 1.500 individuos, respectivamente. En cuanto a los depredadores, la densidad de los representantes de las familias Anthoridae y Coccinellidae, en los maíces no *Bt* fue superior a los 400 y 800 individuos en los años secos y húmedos, respectivamente, mientras que en los transgénicos esos valores fueron de 150 y 450 individuos, respectivamente (Fig. 1.5).

En los maíces *Bt* se presenta una marcada diferencia entre la abundancia de la familia plaga (Aphididae) y la de los enemigos naturales (Anthocoridae, Coccinellidae, Syphidae, Chrysopidae y Braconidae), observándose también una leve disminución de la cantidad de enemigos naturales con el transcurrir de los años, a pesar que la familia Aphididae aumentó su población. Por el contrario, en los maíces convencionales las curvas de los áfidos y de sus enemigos naturales se encuentran en un rango semejante de abundancia, y esta se mantiene relativamente constante en los distintos años, sin considerar los años de sequía (Fig. 1.5).



A

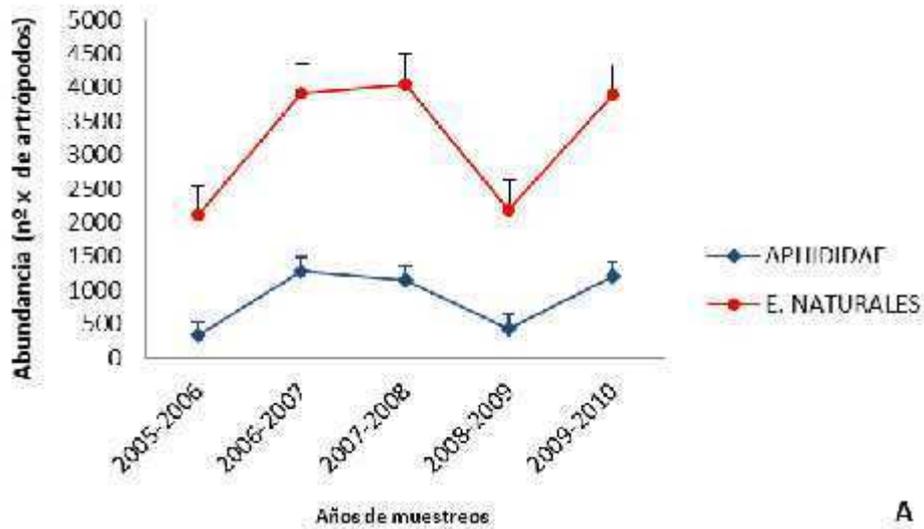


B

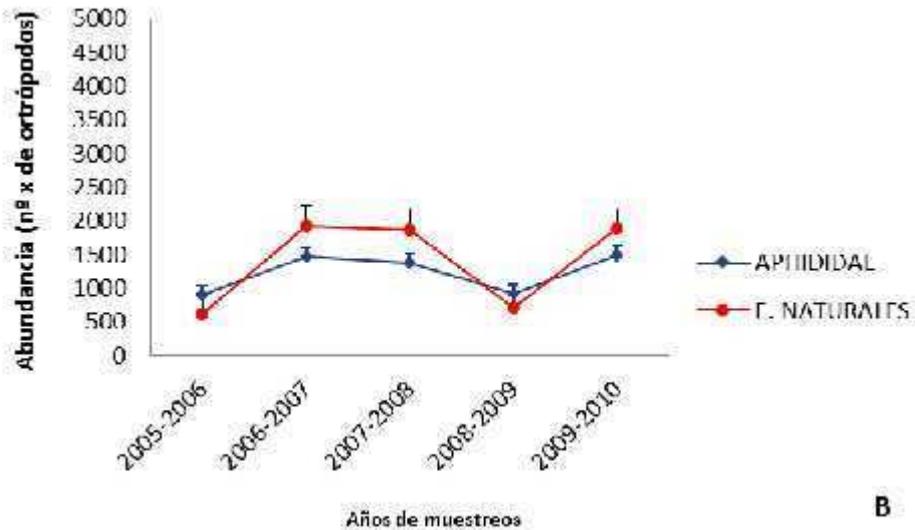
Figura 1.5: Abundancia (promedio por familia) para cada año de muestreo en los maíces no Bt (A), y maíces Bt (B).

En los maíces convencionales la cantidad total de enemigos naturales superó ampliamente a la cantidad de áfidos en el híbrido convencional, aún en los años críticos de sequía para el cultivo (Fig. 1.6). En tanto que en los maíces transgénicos, si bien la

cantidad total de enemigos naturales fue superior a la de la plaga, esto no ocurrió en los años críticos donde la cantidad de los organismos enemigos naturales fue inferior.



A



B

Figura 1.6: Comparación de la abundancia de Aphididae y la abundancia total de los enemigos naturales (\pm D. E.), en los maíces no Bt (A) y Bt (B).

DISCUSIÓN

La mayor cantidad de áfidos se halló en los maíces *Bt*, estos resultados coinciden con los estudios sobre el efecto del maíz transgénico en las comunidades de áfidos (Dutton *et al.*, 2002; Bourget *et al.*, 2002; Ramírez-Romero *et al.*, 2008). También en un estudio realizado a campo, Pons *et al.*, (2005) encontraron mayor cantidad de pulgones en las plantas *Bt* que en las plantas de su línea isogénica. A iguales resultados llegaron Liu *et al.* (2005), en un estudio realizado en el cultivo de algodón genéticamente mejorado. Faria *et al.* (2007) concluyen que los áfidos se desempeñan mejor en las líneas transgénicas (*Bt*) debido a que los análisis de la savia de la que se alimentaban revelaron una concentración de aminoácidos mucho mayor en el maíz transgénico.

En relación a las curvas poblacionales la presencia de colonias de pulgones al inicio del cultivo, pudo deberse a que provinieron de los cereales de invierno (Pons *et al.*, 2003). Estas colonias, compuestas en su mayoría por individuos alados no pudieron persistir debido, posiblemente, a la presencia de sustancias alcaloides y compuestos fenólicos (Leszczynski *et al.*, 1995) y ácidos hidroxámicos (Niemeyer, 1992), relacionados con la resistencia de los cereales a los pulgones. El pico poblacional en estado vegetativo, a partir de la cuarta y sexta hoja, pudo deberse a adecuada calidad nutricional de la planta (Kennedy & Stroyan, 1959), la que al ir disminuyendo durante los meses de verano (Frazer, 1988), unida a las condiciones de altas temperaturas, provocaría la disminución poblacional.

Respecto a los enemigos naturales se encontraron diferencias en la abundancia de los mismos entre los híbridos estudiados. Lo Pinto *et al.* (2004) consideran que los estímulos que guían a los parasitoides y depredadores en el campo son los componentes volátiles emitidos por las plantas en respuesta al ataque de herbívoros hospederos, por lo que la emisión de estos por parte de los cultivos transgénicos es menor, encontrando los pulgones menor resistencia en sus ataques. Por lo anteriormente expuesto puede entenderse la mayor cantidad de áfidos en los cultivos *Bt*, ya que no son afectados por la toxina y son beneficiados por la menor concurrencia de depredadores.

Los himenópteros parasitoides contribuyen a controlar de forma importante los áfidos (Bishop & Milne, 1986). Los afidiinos (Hymenoptera, Braconidae) son endoparásitos koinobiontes de áfidos, se trata por tanto de parasitoides especialistas (Pennacchio & Tremblay, 1987). El género identificado en este estudio es *Aphidius* sp. En este estudio la tasa de parasitismo de los áfidos, en ambos híbridos, no fue elevada. A guales conclusiones llegó Langer (2001), en Dinamarca, con respecto a los himenópteros de pulgones que afectan a la alfalfa. La mayor tasa de parasitismo ocurre cuando la densidad de población de pulgones es elevada (García *et al.*, 2010); es decir los picos de individuos de ataques corresponden a los picos de mayor densidad de población de pulgones, pues sincronizan su ciclo biológico con el de sus huéspedes (Christiansen-Weniger & Hardie, 1997).

Las plantas se enfrentan constantemente al ataque de herbívoros a lo cual responden con cambios en la expresión de genes que promueven el fenómeno de resistencia inducida (Karban & Baldwin, 1997). Dentro de estos mecanismos de defensa inducida (defensa química de las plantas) se encuentran los compuestos orgánicos volátiles (Heil & Silva Bueno, 2007).

Las diferencias reportadas en la abundancia de enemigos naturales, entre las plantas *Bt* y no *Bt* incluyen cambios en la mezcla de volátiles emitidos por las plantas (Yan *et al.*, 2004; Turlings *et al.*, 2005; Dean y De Moraes 2006; Ibrahim *et al.*, 2008), el contenido de aminoácidos de la savia (Faria *et al.*, 2007) y la composición de melazas (Lawo *et al.*, 2009). Estos cambios potenciales en la calidad de las plantas debido a la modificación genética de plantas de maíz podrían afectar el desarrollo y la mortalidad de parasitoides (Vinson 1976; Oliver *et al.*, 2005; Bukovinszky *et al.*, 2008). En nuestro trabajo se encontró que el maíz *Bt* no afecta los porcentajes de parasitismo de los pulgones del maíz, ya que si bien la abundancia de parasitoides fue menor el porcentaje de parasitismo fue similar.

Del mismo modo Krinsky & Wrubel (1996) y Rissler & Mellon (1996) analizaron las ventajas y desventajas de los maíces *Bt* remarcando que uno de los aspectos negativos en el uso masivo de la toxina *Bt* en cultivos es que puede desencadenar interacciones potencialmente negativas que afecten a procesos ecológicos y a organismos benéficos en la cadena trófica pudiendo disminuir la cantidad o calidad

de los insectos plagas que constituye el alimento para sus depredadores. Stephen *et al.* (2012) demostraron que las proteínas pueden pasar de la planta al predador, a través de los áfidos, pero las concentraciones disminuyen al aumentar las cadenas tróficas (García *et al.*, 2010). En este trabajo se observó una leve disminución de los enemigos naturales en los últimos años de muestreos. A conclusiones similares llegaron Sisterson & Tabashnik (2005) utilizando un modelo de dinámica poblacional para analizar el efecto de estos cultivos sobre la persistencia de los parasitoides. Por lo tanto la toxina *Bt* podría aumentar la mortalidad de ciertos herbívoros presa y, en consecuencia, a poblaciones de depredadores. Además, el gen de la toxina puede tener efectos subletales sobre presas de herbívoros (presas enfermas), lo que podría reducir su calidad como “presa” para los depredadores (Krimsky & Wrubel, 1996; Rissler & Mellon, 1996).

El maíz *Bt* es una herramienta eficaz para el control plagas clave y permite la combinación con otras medidas de control para el manejo de otros insectos plaga pero, coincidiendo con lo mencionado por Lang & Otto (2010), es necesaria la continuación de estudios que permitan medir el impacto a largo plazo y a gran escala de las PGM sobre la población de organismos, que incluyan diferentes áreas geográficas, para una valoración más robusta del riesgo de estos cultivos en el futuro.

CONCLUSIÓN

Se observó que en el cultivo de maíz *Bt* se incrementó la densidad poblacional de áfidos en comparación con el genotipo no *Bt*

En los maíces no *Bt* las poblaciones de los predadores y parasitoides de áfidos fueron más abundantes, asociada principalmente a la mayor cantidad de señales químicas por parte de los cultivos.

La medición de la evolución de las poblaciones a lo largo de las cinco campañas agrícolas permitió determinar una leve disminución de la abundancia de artrópodos benéficos en los maíces *Bt*.

BIBLIOGRAFÍA

- AL-DEEB, M. A.; G. E. WILDE & R. A. HIGGINS (2001). No effect of *Bacillus thuringiensis* com on the predator *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). Environ. Entomol. 30: 625-629.
- AL-DEEB, M., WILDE, G. 2003. Effect of Bt Corn Expressing the Cry3Bb1 Toxin for Corn Rootworm Control on Aboveground Nontarget Arthropods. Environmental Entomology. 32(5): 1164-1170.
- ARMENDANO, A. & A. GONZÁLEZ (2010). Comunidad de arañas (Arachnida, Araneae) del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en Buenos Aires, Argentina. Revista de Biología Tropical 58: 747-757.
- BARBOSA, T.M.; SOUSA, F. & VILAS-BOAS, J.P. (1999). Kinematical modifications induced by the introduction of the lateral inspiration in butterfly stroke, In: Biomechanics and Medicine in Swimming VIII, K.L. Keskinen, P.V. Komi & P.A. Hollander, (Eds.), 15-19, Gummerus Printing, Jyväskylä
- BARRIENTOS, J. A. (Coord.) (1988). Bases para un curso práctico de Entomología. Asociación española de Entomología (Eds.). 754 pp.
- BISHOP, A. L. & W. M. MILNE (1986). The impact of predators on lucerne aphids and the seasonal production of lucerne in the Hunter Valley, New South Wales. J. Australian Entomol. Society 25: 333-337.
- BOURGET, D.; J. CHAUFaux; A. MICOUD; M. DELOS; B. NAIBO; F. BOMBARDE; G. MARQUE; N. EYCHENNE & C. PAGLIARI (2002). *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). Environmental Biosafety Research 1: 49-60.
- BUKOVINSZK, Y T.; F. J. F. VEEN; Y. JONGEMA & M. DICKE (2008). Direct and indirect effects of resource quality on food web structure. Science 319:804-807. doi: 10.1126/science.1148310

- CHRISTIANSEN-WENIGER, P. & J. M. HARDIE (1997). Development of the aphid parasitoid *Aphidius ervi*, in asexual and sexual females of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and the blackberry-cereal aphid, *Sitobion fragariae*, *Entomophaga* 42 (1-2): 165-172.
- DE LA POZA, M.; X. PONS; G. P. FARINÓS; C. LÓPEZ; F. ORTEGO; M. EIZAGUIRRE; P. CASTAÑERA & R. ALBAJES (2005). Impact of farm-scale *Bt* maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Protection* 24: 677-684.
- DE MORAES FERNANDES, M. I. B.; A. C. A. ZANATTA; A. M. PRESTES; V. DA ROSA CAETANO; A. L. BARCELLOS; D. C. ANGRA & V. PANDOLFI (2000). Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). *Genetic and Molecular Biology* 23: 1051-1062.
- DE MORAES, C. M., LEWIS, W. J., PARE, P. W., ALBORN, H. T., & TUMLINSON, J. H (1998). Herbivore infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* 393: 570-573.
- DEAN, J. M. & C. M. DE MORAES (2006). Effect of genetic modification on herbivore-induced volatiles from maize. *Journal Chemistry Ecology* 32: 713-724.
- DELFINO, M. A. (2002). Dos especies de pulgones de interés fitosanitario nuevas para la afídofauna argentina (Hemiptera: Aphididae). En: Resúmenes XI Fitosanitarias Argentinas. Junio 2002. Fac. de Agronomía y Veterinaria. UNRC. Córdoba. 123 pp.
- DUTTON, A.; H. KLEIN; J. ROMEIS & F. BIGLER (2002). Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- FARIA, C. A.; F. L. WÄCKERS; J. PRITCHARD; D. A. BARRETT & T. C. TURLINGS (2007). High susceptibility of *Bt*maize to aphids enhances the

performance of parasitoids of lepidopteran pests. PLoS ONE 2(7): e600.
doi:10.1371/journal.pone.0000600

FOELIX, R. (1982). *The Biology of Spiders*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press. 305 pp.

FRANCO, J., J. DE LA CRUZ, G. CRUZ, R. ROCHA, S. NAVARRETE, M. FLORES, M. KATA, C. SÁNCHEZ, A. ABARCA Y S. BEDINA (1989). *Manual de ecología*. Trillas, México. 94 p.

FRAZER, B. D. (1988). Coccinellidae. In: Minks, A. K; Harrewijn, P. (eds) *Aphids*

GARCÍA, M.; F. ORTEGO; P. CASTAÑERA & G. P. FARINÓS (2010). Effects of exposure to the toxin Cry1Ab through *Bt* maize fed-prey on the performance and digestive physiology of the predatory rove beetle *Atheta coriaria*. *Biological Control* 55(3) 225-233.

GONZALEZ, G. (2009). Los Coccinellidae de Argentina (on line). Disponible en World Wide. Web: <http://www.coccinellidae.cl/paginasWebAr>.

GONZÁLEZ OLAZO, E.; I. REDOLFI; G. PATT & M. CAMPOS (2012) Diversidad específica de controladores biológicos crisópidos (Neuroptera: Chrysopidae) en el germoplasma olivícola en la Plaza Solar, La Rioja, Argentina. *Rev. Ciencias Agrarias, de la Ingeniería y de los Materiales. UNLaR Ciencia Vol.1 N°2 (2012)* p31-35.

GOULET, H. & J. HUBER (1993). *Hymenoptera of the World: An identification Guide to Families*. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa, 668 pp.

GROOT, A. T. & M. DICKE (2002). Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant Journal* 31: 387-406.

HARWOOD, J. D.; W. G. WALLIN & J. J. OBRYCKI (2005). Uptake of *Bt* endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Mol. Ecol.* 14: 2815-2823.

- HEIL, M. & J. C. SILVA BUENO (2007). Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:5467-5472.
- HELLMICH R.L; R. ALBAJES & D. BERGVINSON (2008) The present and future role of insect-resistant genetically modified maize in IPM. In: Romeis J, Shelton AM, Kennedy GG (eds) *Integration of insect-resistant, genetically modified crops within IPM programs*. Springer, Dordrecht, pp 119–158
- HILBECK, A.; M. BAUMGARTNER; M. P. FRIED & F. BIGLER (1998a). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27: 480-487.
- HILBECK, A.; W. J. MOAR; M. PUSZTAI CAREY; A. FILIPPINI & F. BIGLER (1999). Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 305-316.
- HILBECK, A.; W. J. MOAR; M. PUSZTAI-CAREY; A. FILIPPINI & F. BIGLER. (1998a). Toxicity of *Baccillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27: 1255-1263.
- IBRAHIM, M. A.; A. STEWART-JONES; J. PULKKINEN; G. M. POPPY & J. K. HOLOPAINEN (2008). The influence of different nutrient levels on insect-induced plant volatiles in *Bt* and non-*Bt* oilseed rape plants. *Plant Biol.* 10: 97-107.
- JOHNSON, M. T. (1997). Interaction of resistant plants and wasp parasitoids of tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 26: 207-214.
- KARBAN, R. & I. T. BALDWIN (1997). *Induced responses to herbivory*. University of Chicago Press, Chicago, USA, 319pp.
- KASTON, B. J. (1978). *How to know the spiders*. Brown Company Publishers. 272 pp.

- KENNEDY, J. S. AND STROYAN, H. L. G. (1959). Biology of aphids. A.Rev. Ent. 4, 139–160.
- KRIMSKY, S. & R. WRUBEL (1996). Agricultural biotechnology and the environmental: science, policy and social issues. 2:25-32. In: MOONEY, S. & D. GERERD. 2003. Using environmental bonds to regulate the risks of GM crops: problems and prospects. Environ. Biosaf.Res.University of Illinois Press, Urbana and Chicago.
- LANGER V., 2001.- The potential of leys and short rotation coppice hedges as reservoirs for parasitoids of cereal aphids in organic agriculture.- Agriculture, Ecosystems and Environment, 87: 81-92.
- LANG, A. & M. OTTO. (2010). A synthesis of laboratory and field studies on the effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize on non-target Lepidoptera Entomologia Experimentalis et Applicata 135 (2): 121-134.
- LAWO, N. C.; F. L. WÄCKERS & J. ROMEIS (2009). Indian Bt cotton varieties do not affect the performance of cotton aphids. PLoS ONE. 4, e4804.
- LIU, Y. F.; J. SU; M. S. YOU; Q. WANG; S. Q. HU; W. H. LIU; S. X. ZHAO & F. WANG (2005). Effect of transgenic pest-resistant rice on pest insect communities in paddy fields. Acta Entomologica Sinica 48, 544-553.
- LO PINTO, M.; E. WAJNBERG; S. COLAZZA; C. CURTY & X. FAUVERGUE (2004). Olfactory response of two aphid parasitoids. *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid, to aphid-infested plants from a distance. Entomología Experimentalis et Applicata 110: 159-164.
- MAGURRAN, A. (2001). Ecological diversity and its measurement. 41-42 pp.Disponible:http://www.humboldt.org.co/humboldt/homeFiles/inventarios/GE_MA_PRELIMINARES_2ED.pdf. Acceso 21 julio 2009.
- MAJERUS, M.& P. KEARNS (1989). Ladybirds. RICHMOND PUBLISHING CO. LTD. (Eds.). 103 pp.

- MANACHINI, B.; M. AGOSTI & I. RIGAMONTI (1999). Environmental impact of *Bt*-corn on non “target” entomofauna: synthesis of field and laboratory studies. Human and environmental exposure to xenobiotics. Proceedings of the XI Symposium Pesticide Chemistry 873-882.
- MARTÍNEZ, A.T.; F. J. RUIZ-DUEÑAS; M. J. MARTÍNEZ; J. C. RIO & A. GUTIÉRREZ (2009). Enzymatic delignification of plant cell wall: from nature to mill. *Current Opinion in Biotechnology* 20 (3):348-357.
- MASSON, L.; B. E. TABASHNIK; Y. B. LIU; R. BROUSSEAU & J. L. SCHWARTZ (1999). Helix 4 of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin lines the lumen of the ion channel. *Journal Biological Chemistry* 274: 31996-32000.
- MEISSLE, M.; P. MOURON; T. MUSA; F. BIGLER; X. PONS; V. P. VASILEIADIS; S. OTTO; D. ANTICHI; J. KISS; Z. PÁLINKÁS; Z. DORNER; R. VAN DER WEIDE; J. GROTEN; E. CZEMBOR; J. ADAMCZYK; J-B. THIBORD; B. MELANDER; G. CORDSEN NIELSEN; R. THOSTRUP POULSEN; O. ZIMMERMANN; A. VERSCHWELE & E. OLDENBURG (2010). Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: Current status and future prospects. *J. Appl. Entomol.* 134: in press. doi: 10.1111/j.1439-0418.2009.01491.x
- MOAR, W.; M. EUBANKS; B. FREEMAN; S. TURNIPSEED; J. RUBERSON & G. HEAD (2003). Effects of *Bt* cotton on biological control agents in the southeastern United States. 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods 275-277.
- NARANJO, S. & P. ELLSWORTH (2002). Looking for functional “non-target” differences between transgenic and conventional cottons: Implications for biological control. Arizona Cotton Report, The University of Arizona College of Agriculture and Life Sciences, <http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1283>.
- NARANJO S. E. (2009). Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 4(11)

- NEWMAN, M.C. Y M. A. UNGER. 2003. *Fundamentals of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Estados Unidos. 458 pp. Referenciada 10/5/2009. Disponible: <http://foros.monografias.com/archive/index.php/t-38141.html>
- NIEMEYER H.M. (1992). Aspectos ecológicos y moleculares de la interacción entre áfidos y sus plantas hospederas. *Revista Chilena de Historia Natural*.65: 103-114.
- NIETO NAFRÍA, J. M. & M. P. MIER DURANTE (1984). Claves para la identificación de la fauna española. 17. Los géneros de pulgones de España (Hom. Aphidoidea). Universidad de León, Secretariado de Publicaciones (Eds.). León, España, 85 pp.
- NIETO NAFRÍA, J. M. & J. DE BENITO DORREGO (1976). Los pulgones (Hom., Aphidinea) de las plantas cultivadas en España. II Cereales. *Boletín de Servicios de Plagas* 2: 225-245.
- NIETO NAFRÍA, J. M.; M. A. DELFINO & M. P. MIER DURANTE (1994). La afidofauna de la Argentina, su conocimiento en 1992. Secretariado de Publicaciones. Universidad de León. España. 235 pp.
- O'CALLAGHAN, M.; T. GLARE; E. BURGESS & L. MALONE (2005). Effects of plants genetically modified for insect resistance on non-target organisms. *A. Rev. Entomol.* 50: 271-292.
- OLIVER, S.; A. HARDEN; R. REES; J. SHEPHERD; G. BRUNTON & J. GARCIA (2005). An emerging framework for integrating different types of evidence in systematic reviews for public policy. *Evaluation* 11(4): 428-446.
- ORR, D. B. & D. A. LANDIS (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. Econ. Entomol.* 90: 905-909.
- ORTEGO, J. & M. E. DIFABIO (2002). Primer registro de *Sipha (Rungsia) maydis* Passerini 1860 (Hemiptera: Aphididae) potencial plaga de cereales en Argentina.

En: Resúmenes XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Junio de 2002. Fac. de Agronomía y Veterinaria. UNRC. 126 pp.

- PENACHIO, F. & E. TREMBLAY (1987). Seasonal phenologies and effectiveness of natural enemies in regulating pest aphid populations in alfalfa fields of Southern Italy. *Bolletino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri* 44: 63-75.
- PILCHER, C. D.; M. E. RICE & J. J. OBRYCKI (2005). Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. *Environ. Entomol.* 34: 1302-1316.
- PONS, X. & P. STARÝ (2003). Spring aphid-parasitoid (Hom., Aphididae-Hym., Braconidae) associations and interactions in a Mediterranean arable crop ecosystem, including *Bt* maize. *Journal of Pest Science* 76: 133-138.
- PONS, X.; B. LUMBIERRES; C. LÓPEZ & R. ALBAJES (2005). Abundance of non-target pests in transgenic *Bt*-maize: A farm scale study. *Eur. J. Entomol.* 102:73-79.
- RAMÍREZ-ROMERO, R.; J. S. BERNAL; J. CHAUFaux & L. KAISER (2008). Impact assessment of *Bt*-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or *Bt*-plants. *Crop Protection* 26: 953-962.
- RAPS, A.; J. KEHR; P. GUGERLI; W. J. MOAR; M BIGLER & A. HILBECK (2001). El análisis inmunológicos de la savia del floema de *Bacillus thuringiensis* de maíz y de los que no son objeto herbívoro *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) de la presencia de Cry1Ab. *Mol. Ecol.* 10: 525-533.
- REMAUDIÈRE, G. & M. V. SECO FERNÁNDEZ (1990). Claves de pulgones alados de la región mediterránea. I- Introducción y claves. Universidad de León, Secretariado de publicaciones (Eds.). León, España. 119 pp.

- REMAUDIÈRE, G. & M. V. SECO FERNÁNDEZ (1990). Claves de pulgones alados de la región mediterránea. II- Ilustraciones y listas alfabéticas de los taxones. Universidad de León. Secretariado de publicaciones (Eds.). León, España. 205 pp.
- RISSLER, J. & M. MELLON (1996). The ecological risks of engineered crops. Cambridge, M A: MIT Press. 168 pp.
- RUPERT, E. E. & R. D. BARNES (1996). Zoología de los invertebrados, 5ta edición, Interamericana, México D.F. 1140 pp.
- SAINI, E. & C. GRECCO (1992). Identificación práctica de los insectos entomófagos relacionados con los pulgones. I- Depredadores sírfidos. Secretaría de Agricultura, Pesca y Ganadería. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 11 p.
- SAINI, E. D. (1985^a). Identificación práctica de "vaquitas benéficas". II. I.N.T.A. 22 pp.
- SAINI, E. D. (1988). Identificación práctica de pentatómidos perjudiciales y benéficos II. INTA. 28pp.
- SAINI, E. D. & O. R. DE COLL (1995). Clave para la identificación de ninfas de pentatómidos en cultivos de yerba mate. RIA, 26 (2): 51-63.
- SALAS, J. (1995). *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae), su presencia en la región centro occidental de Venezuela. Agronomía Tropical. 45(4):637-645.
- SALUSO, A. (2002). Presencia de un nuevo pulgón en cereales y gramíneas forrajeras anuales y perennes. Disponible on line: <http://www.inta.gov.ar/parana/info/documentos/produccion%5vegetal/trigo/plagas/pulgon.htm>.
- SCHULER, T.; G. POPPY; B. KERRY & I. DENHOLM (1999). Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropods natural enemies. Review. Tibtech 17: 210-216.
- SHIOJIRI, K.; J. TAKABAYASHI; S. YANO & A. TAKAFUJI (2002). Oviposition preferences of herbivores are affected by tritrophic interaction webs. Ecology Letters 5: 186-192.

- SISTERSON, M. & B. TABASHNIK (2005). Simulated Effects of Transgenic *Bt* Crops on Specialist Parasitoids of “target” Pests. *Environ. Entomol.* 34(4): 733-742.
- STANGER, L. A. (2000). The Green Lacewings of Florida (Neuroptera:Chrysopidae). 1. General. *Entomology Circular No. 400*. Dept. Agric. & Consumer Serv. May/June 2000. 4pp. *Acta Zoológica Mexicana* 22(1): 17-61.
- STARÝ, P. (1976). Aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Mediterranean Area. Dr. W. Junk, The Hague, Netherlands, 95 pp.
- STARÝ, P. (1979). Aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Central Asian Area. Dr. W. Junk, The Hague, Boston, London, 114 pp.
- TAPIA, E. A. (1947). Dos pulgones perjudiciales a los cultivos de cereales. En: *Almanaque del Ministerio de Agricultura de la Nación*. Bs. As. 235-237.
- TURLINGS, T. C. J.; P. M. JEANBOURQUIN; M. HELD&T. DEGEN (2005). Evaluating the induced-odour emission of a *Bt* maize and its attractiveness to parasitic wasps. *Transgenic Research* 14 (6): 807-816.
- UNIVERSITY OF CALIFORNIA. AGRICULTURE AND NATURAL RESOURCES. Identification: Key to Aphids Commonly Found in Small Grains, Corn, and Sorghum in California. Disponible on line: <http://www.ipm.ucdavis.edu/TOOLS/KEYAPHIDGRAIN/beginkey.html>.
- VALENCIA LUNA, L. A.; J. ROMERO NÁPOLES; J. VALDEZ CARRASCO; J. L. CARRILLO SÁNCHEZ& V. LÓPEZ MARTÍNEZ (2006). Taxonomía y registros de Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana*. 22(1): 17-61.
- VAN EMDEN, H. F. (1995). Host-plant-aphidophaga interactions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 52: 3-11.
- VET, L. E. M. & M. DICKE (1992). Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *An. Rev. Entomol.* 37, 141-172.
- VINSON, S. B. (1976). Host selection by insect parasitoids. *An. Rev. Entomol.* 21: 109-133.

CAPÍTULO 2

INCIDENCIA DE LOS INSECTOS PLAGA DEL ORDEN LEPIDOPTERA Y SUS PARASITOIDES, EN MAÍCES CONVENCIONALES Y GENÉTICAMENTE MEJORADOS

RESUMEN

Los cultivos transgénicos tienen un excelente control de las plagas para las cuales fueron diseñados, dentro de ellos uno de los más extendidos a nivel mundial es el maíz *Bt* para el control de lepidópteros, que son una de las plagas más importantes del maíz en la Argentina, ocasionando, en promedio, pérdidas de aproximadamente el 21%. Muchos entomófagos (predadores y parasitoides) y entomopatógenos (hongos, bacterias y virus), juegan un importante papel en la reducción de las poblaciones de plaga. Los efectos de los cultivos transgénicos sobre los parasitoides en el campo no han sido debidamente estudiados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de los maíces *Bt* en las plagas claves y sus parasitoides presentes en cultivos de la zona centro de la provincia de Santa Fe. Los muestreos a campo se realizaron durante cinco campañas agrícolas: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010. Para ello se tomaron diferentes lotes, dentro de la misma explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (Pujato Norte), departamento Las Colonias (Santa Fe). Anualmente se sembraron 2 parcelas de maíz de 1 ha cada una, una con un híbrido que expresa la toxina *Cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* Berlinery otra con un híbrido convencional. Se utilizaron dos métodos de muestreos, trampas amarillas pegajosas y recuentos visuales. Los datos se analizaron estadísticamente con el programa InfoStat (versión 2011). Para determinar diferencia entre tratamientos se realizó un test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados. Las principales familias de Lepidoptera en los recuentos visuales fueron Noctuidae y Pyralidae. De Noctuidae se hallaron *S. frugiperda* y *Heliothis zea*, mientras que de Pyralidae, *D. saccharalis*. Existieron diferencias significativas en la abundancia de Lepidopteros entre ambos híbridos, siendo 70% superior en el no *Bt*. En relación a los enemigos naturales existieron diferencias en la abundancia de parasitoides, entre los maíces *Bt* y no *Bt*, a favor de éstos últimos, si bien el porcentaje de parasitismo fue similar en los dos tipos de híbridos.

INTRODUCCIÓN

Las plantas genéticamente modificadas (PGM) surgen como alternativa para el control de plaga con el objetivo de reducir el daño de insectos fitófagos sobre los cultivos, así como la disminución de los problemas de resistencia a los insecticidas por parte de estos. Los cultivos transgénicos tienen un excelente control de las plagas para las cuales fueron diseñadas (“blanco”) (Estruch *et al.*, 1997; Federici, 1988) y, dentro de ellos, uno de los más extendidos a nivel mundial es el maíz *Bt* para el control de lepidópteros, considerados especies “blanco” u “objetivos” de éstos cultivos.

Los eventos de maíz transgénicos liberados en nuestro país tuvieron como especie “blanco” al “barrenador europeo del maíz” *Ostrinia nubilalis* (Hübner), a pesar de que esta especie no se encuentra presente en nuestra región, el uso se ve justificado para el control de otros de Lepidopteros plagas en Argentina, como *Diatraea saccharalis* (Fabricius), *Spodoptera frugiperda* (Smith), *Heliothis virescens* (Fabricius), (Bohorova *et al.*, 1995; Aragón *et al.*, 2000; Buntin *et al.*, 2004). El “barrenador del maíz”, *D. saccharalis*, es una de las plagas más importantes del cultivo de maíz en la Argentina (Igarzábal *et al.*, 1994) ocasionando, en promedio, pérdidas de rendimiento de aproximadamente el 21% (Leiva & Iannone, 1993), provocadas por las larvas. Éstas, ni bien nacen se alimentan de tejido foliar y a los dos o tres días (Alvarado *et al.*, 1980) o después del segundo estadio (Greco, 1995) penetran en el tallo. Cuando el ataque se produce en una planta joven, pueden dañar el brote terminal provocando su muerte (Alvarado *et al.*, 1980).

Las poblaciones del barrenador aumentan desde la siembra hasta la cosecha (Parisi & Dagoberto, 1979; Dagoberto & Lecuona, 1982), llegando a tener, según las regiones, entre tres y cuatro generaciones anuales (Aragón, 1996). Los daños directos son la disminución del rendimiento de la planta, al cortar los haces vasculares y disminuir la conducción de fotoasimilados a la espiga (Alonso & Miguez, 1984; Aragón, 1996). La presencia de un orificio o entrenudo barrenado por tallo genera una disminución de 2 a 2,5 qq/ha (Iannone, 2001; Serra, 2003). Producen además, daños indirectos como el quebrado de plantas, el ingreso de patógenos, y las pérdidas durante la cosecha debido a la caída de espigas como consecuencia del barrenado del pedúnculo y base de las mismas (Leiva & Iannone, 1993).

La “oruga cogollera”, *S. frugiperda* es otra plaga principal que afecta la producción del maíz en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Viana *et al.*, 2004), si bien es nativa del trópico, posee una amplia distribución geográfica, desde Argentina y Chile, hasta el sur de Estados Unidos (López *et al.*, 1999; Pashley *et al.*, 2004; Martinelli *et al.*, 2007). Es de hábito polífago, ocasionando pérdidas en diversos cultivos, entre ellos algodón, sorgo, soja, girasol y maíz, (Pastrana & Hernández, 1979; Alonso-Álvarez, 1991; Murillo, 1991; Malo *et al.*, 2001). Esta característica, junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones, permite su amplia distribución geográfica (Andrews, 1988; Willink *et al.*, 1993; Artigas, 1994; Virla *et al.*, 1999; Clavijo & Pérez Greiner, 2000; Pogue, 2002).

Las larvas de *S. frugiperda* atacan al maíz actuando como cortadoras, defoliadoras y cogolleras, produciendo también daños directos cuando se alimentan de los granos (Willink *et al.*, 1993). Las hembras adultas prefieren depositar los huevos en hojas del maíz que han sufrido menor daño por larvas co-específicas (Alonso-Álvarez, 1991). Un aspecto interesante de su comportamiento, es la migración de las larvas a partir del 2^{do} estadio, con el fin de buscar nuevas plantas sobre la superficie del suelo o ayudadas por el viento, por lo tanto a partir de pocas posturas se puede lograr una infestación generalizada en los lotes (Murillo, 1991). Cuando afecta las plantas jóvenes los daños pueden ser totales, mientras que si afecta las plantas en estados fenológicos avanzados, éstas pueden reponerse llegando a dar una producción normal. En Argentina, *S. frugiperda* es la plaga principal en las regiones del noroeste y noreste del país (Willink *et al.*, 1990). Los maíces de siembra tardía son los más afectados, requiriendo hasta tres aplicaciones de piretroides para su control (Willink *et al.*, 1991). Estudios realizado por Carpenter & Young (1991) mencionan problemas de resistencia de esta plaga a los insecticidas convencionales.

El maíz *Bt* produce niveles altos de proteína *Cry*, que eliminan tanto a las larvas homocigotas susceptibles (ss) como a las heterocigotas (sr) y permiten la supervivencia de una pequeña porción de resistentes (rr). Los adultos susceptibles al cruzarse con los resistentes, permite restablecer la frecuencia normal de susceptibles/resistentes (Forjan, 2002).

La siembra de refugios, es un recurso ligado a la tecnología *Bt*, integrada a su metodología de manejo. Consiste en la siembra de un bloque o una franja de híbridos que no contengan los genes de *Bt*. Estas áreas funcionan como reservorio de individuos susceptibles, siendo éste un carácter dominante sobre el de resistencia (ASA-Asociación Semilleros Argentinos, 2002). En Argentina, se recomienda que la superficie destinada a los refugios debe ser el 10% del área cultivada (Forjan, 2002), mientras que en los EE.UU. y Canadá, la recomendación es del 20%, como mínimo (EPA, 2001).

Hasta hace poco se estimaba poco probable encontrar alelos resistentes en poblaciones de insectos susceptibles, sin embargo, ya se ha comprobado que *Plutella xylostella* (Linnaeus) ha desarrollado resistencia a cuatro tipos de toxinas *Bt*: *CryIAa*, *CryIAb*, *CryAc* y *CryIF*. Ello parece indicar que las plagas pueden tornarse resistentes mucho más rápido de lo previsto (Pengue, 2004). En los últimos años por lo menos 12 especies de lepidópteros, entre ellas *Heliothis virescens* (Fabricius), *Trichoplusia ni* (Hübner), *Spodoptera litoralis* (Boisduval) y *Spodoptera exigua* (Hübner), han presentado resistencia en ensayos de laboratorio, mientras que *Plodia interpunctella* (Hübner) y *P. xylostella*, la presentaron en poblaciones silvestres, demostrando que tienen la capacidad genética de adaptarse a los cultivos *Bt* (Fakrudin *et al.*, 2004; Pengue, 2004).

Los parasitoides koinobiontes se caracterizan por su especificidad y la sincronización de sus ciclos vitales con los de sus huéspedes, convirtiéndose en agentes importantes de control biológico (Godfray, 1994), razón por las cuales existen mayores evidencias y, por ende, mayor consenso en lo que refiere al impacto negativo de los PGM sobre sus poblaciones. Una serie de estudios reportan una disminución de la supervivencia de estos enemigos naturales cuando se desarrollan a expensas de herbívoros alimentados con toxina *Cry* (Groot & Dicke, 2002; Lövei & Arpaia, 2005).

A gran escala la adopción de cultivos *Bt* puede reducir enormemente la población de la plaga y, por ende, de sus parasitoides especialistas. Sisterson & Tabashnik (2005) concluyeron que, una vez eliminados a nivel local, la probabilidad de que su población vuelva a incrementarse, esta en relación directa con el porcentaje de rotación de maíces *Bt* y no *Bt*. Sin embargo, los resultados sobre la abundancia de

parasitoides en cultivos genéticamente mejorados y sus pares isogénicos son contradictoria (Pilcher *et al.*, 2005; Orr & Landis, 1997).

OBJETIVO

Determinar la incidencia de las plagas del Orden Lepidoptera y sus parasitoides, en maíces convencionales (no Bt) y en maíces genéticamente modificados (Bt).

MATERIALES Y METODOS

Los muestreos a campo se realizaron durante cinco campañas agrícolas consecutivas: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010 en la misma explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (31° 30' S 60° 55' W) en la localidad de Pujato Norte, departamento Las Colonias (Santa Fe).

Anualmente se sembraron dos parcelas de 1 ha, una de ellas con un híbrido de maíz Bt (AX 886 MG) que expresa la toxina Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* Berlinery otra con un híbrido convencional (892CL), ambos del criadero Nidera. Las siembras se realizaron con una distancia entre surcos de 0,70 m. Las fechas en que se realizaron las siembras en cada campaña agrícola se situaron entre los meses de septiembre y octubre (Cuadro 2.1). En ambas parcelas anualmente se realizaron, tratamientos con herbicidas de pre-siembra (Atrazina y Glifosato) y post emergencia (Iodosulfuron + Foramsulfuron y Sulfonilureas).

Cuadro 2.1: Fechas de siembra de los maíces Bt y no Bt, en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.

Campaña	Fecha de siembra
2005-2006	14 de octubre
2006-2007	29 de septiembre
2007-2008	25 de septiembre
2008-2009	20 de septiembre
2009-2010	15 de octubre

El recuento visual es un método de muestreo absoluto mediante el cual se logra identificar y cuantificar la fauna existente sobre la planta. Se determinaron dos

tratamientos (no Bt y Bt), completamente aleatorizados. Mediante sorteo se estipuló la planta de inicio de los recuentos en cada lote, a partir del cual se muestrearon 15 plantas consecutivas en el surco. La unidad de muestreo era la planta completa. De cada planta se examinaron detalladamente las hojas, el tallo y, en la etapa reproductiva, la inflorescencia panoja y la mazorca. Con la finalidad de evitar el efecto de la vegetación presente de los bordes, los sorteos se iniciaron dejando 10 m en cada margen del lote. Los muestreos se realizaron con frecuencia semanal, desde la siembra hasta la cosecha del cultivo.

Para cuantificar la presencia de lepidópteros barrenadores de los tallos, los muestreos fueron de tipo destructivos, ya que se observaron externamente las hojas, con la finalidad de determinar la presencia de desoves y larvas de los dos primeros estadios, los tallos y el interior de los mismos, para el caso de larvas y pupas de *D. saccharalis*.

Se llevaron registros de las especies de las larvas de otros lepidópteros, las que fueron clasificadas en larvas chicas, las pertenecientes a los estadios de desarrollo 1,2 y3 (menos de 0,015 m de longitud) y larvas grandes (más de 0,015m de longitud), cuando pertenecieron a estadios más avanzados (Siebert *et al.*, 2008b).

Con el objetivo de determinar la presencia de parasitoides las larvas se introdujeron individualmente en recipientes y fueron llevadas a la cámara de cría de insectos de la Facultad de Ciencias Agrarias, debidamente rotuladas. En el laboratorio, cada una fue colocada separadamente en cajas de Petri de 9 cm de diámetro, con papel de filtro humedecido y, diariamente, se las alimentó con hojas y tallos de maíces no transgénicos, provenientes de cultivos en laboratorio. Diariamente se realizaron observaciones hasta la emergencia de las mariposas o de los adultos de los parasitoides. Las crías se mantuvieron en condiciones controladas de 70 ± 10 % de HR, 25°C y 16:8 horas de luz:oscuridad.

Las mariposas adultas fueron identificadas, mientras que los adultos de parasitoides se introdujeron en frascos con alcohol 70°, para su posterior identificación.

Para determinar el porcentaje de parasitismo de huevos de lepidópteros, se recolectaron los desoves en el campo y fueron rotulados según el maíz de procedencia.

Del total de desoves encontrados se tomó el 20% por año de muestro. Una vez en la cámara de cría en primer lugar se registró la cantidad de huevos de cada uno, bajo lupa binocular (Olympus SZ40). Luego se los colocó en cajas de Petri de 5 cm de diámetro, en iguales condiciones que las mencionadas para las larvas. Diariamente se realizaron observaciones, hasta el nacimiento de las larvas de lepidópteros o de los adultos de los parasitoides, en este último caso se procedió de igual modo que con los adultos emergidos de las larvas.

Por otro lado, la presencia de adultos de parasitoides de lepidópteros en el cultivo, se determinó mediante el uso de trampas amarillas pegajosas. Las mismas consistieron en cartones de color amarillo con pegamento, de 15 cm de ancho por 25 cm de largo (marca comercial Sübin) que se colocaron colgadas sobre el estrato vegetal, quedando siempre en el tercio superior de las plantas. En cada parcela se utilizaron 4 trampas equidistantes (Manachini *et al.*, 1999), las que semanalmente fueron reemplazadas y llevadas al laboratorio donde se contabilizó y se clasificó a nivel taxonómico de familia y género los representantes recogidos. Para ello se utilizó lupa estereoscópica de 40x y se recurrió al uso de las siguientes obras: Starý (1976 a, b); Navarro *et al.* (2009).

Análisis de los datos

Los datos se analizaron estadísticamente con el programa InfoStat (versión 2011). Para determinar diferencia entre tratamientos se realizó un test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados.

RESULTADOS

Incidencia de Lepidoptera

Los representantes identificados de la familia Noctuidae fueron *S. frugiperda* y, en menor cantidad, *Heliothis zea* y *Rachiplusia un* y de la familia Pyralidae, *D. saccharalis*. En los híbridos no *Bt* la abundancia total de larvas de lepidópteros fue de 2.112 individuos de los cuales el 61% correspondió a *S. frugiperda*, el 24% a *D.*

saccharalis y el 15% restante a *H. zea*, mientras que en los maíces Bt, con un total de 603 individuos, los porcentajes fueron del 62%, 22% y 16%, en ese orden de especies mencionado. El análisis de la abundancia de lepidópteros entre ambos híbridos presentó diferencias significativas ($p=0,0258$), según análisis de Mann-Whitney, siendo en los cultivos no Bt, un 70% mayor (Fig. 2.1).

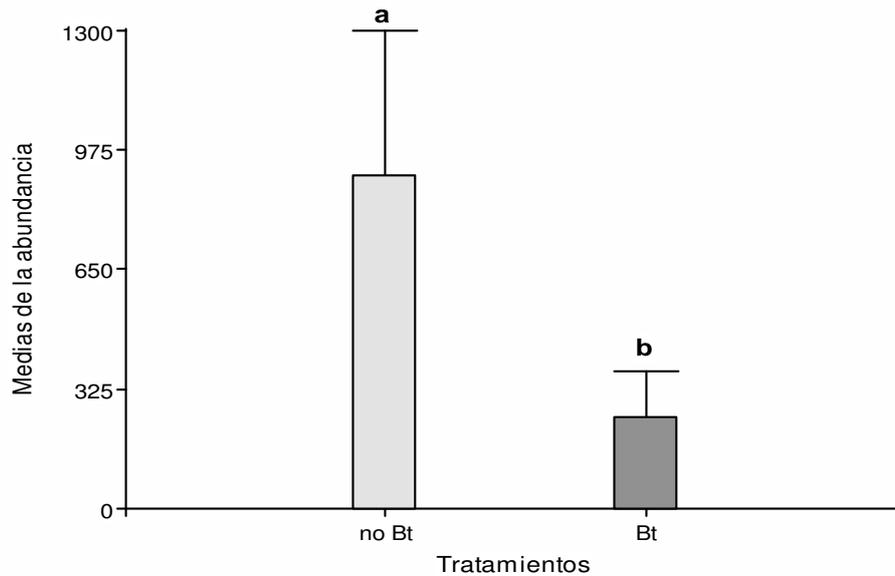


Figura 2.1: Abundancia de larvas de Lepidoptera (media \pm DE) en los híbridos no Bt y Bt.

Letras distintas denotan diferencias significativamente entre sí (Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas).

Sólo se analizó lo observado con *S. frugiperda* y *D. saccharalis*, por ser las especies más abundantes. En el Cuadro 2.2 se puede observar la abundancia media de ambas especies, en las cinco campañas agrícolas, discriminadas por estado y, dentro de las larvas, por tamaño.

Cuadro 2.2: Abundancia promedio (\pm D.E.) de los distintos estados de desarrollo de *D. saccharalis* y *S. frugiperda*, en los maíces *Bt* y no *Bt*, durante las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010.

Estados inmaduros	Abundancia			
	<i>D. saccharalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	<i>Bt</i>	no <i>Bt</i>	<i>Bt</i>	no <i>Bt</i>
Desoves	14 \pm 7,97 a	17,8 \pm 6,83 a	25,2 \pm 8,87 a	39,8 \pm 14,99 ab
L. chicas	11,4 \pm 3,29 a	68,4 \pm 27,18 ab	35,8 \pm 14,96 ab	105,2 \pm 39,85 b
L. grandes	0 a	17,4 \pm 8,02 a	14,20 \pm 7,56 a	115 \pm 46,81 b
Total	137	518	376	1300

Referencias: L. chicas=Larvas chicas; L. grandes= Larvas grandes

Letras distintas en las filas denotan diferencias significativamente entre sí (Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas).

En los maíces *Bt*, para *D. saccharalis*, el 55% de las observaciones correspondió a los desoves y el 45% restante larvas chicas. Se puede ver, que no se encontraron larvas grandes, en tanto que en el maíz no *Bt*, si bien estuvieron presentes, se hallaron en baja cantidad, alcanzando los 87 ejemplares en todas las campañas agrícolas. La abundancia total fue 253% mayor en el híbrido convencional (Fig. 2.2).

Con respecto a *S. frugiperda*, se encontraron en el cultivo *Bt*, desoves, larvas chicas y larvas grandes, tanto los desoves como las larvas chicas fueron numéricamente superiores. En el híbrido convencional, el 33% de los registros fueron desoves, mientras que el resto de las observaciones fueron larvas chicas (47%) y larvas grandes (18%). Si comparamos entre los híbridos observamos que la cantidad de desoves fue similar, en tanto que las larvas chicas fueron 276% más abundantes en el maíz convencional. Respecto a las larvas grandes, en el híbrido convencional la cantidad fue un 708% superior respecto al genotipo *Bt*. Existiendo diferencias significativas con un $p=0,0023$ según el test no paramétrico de de Mann-Whitney (Fig. 2.2).

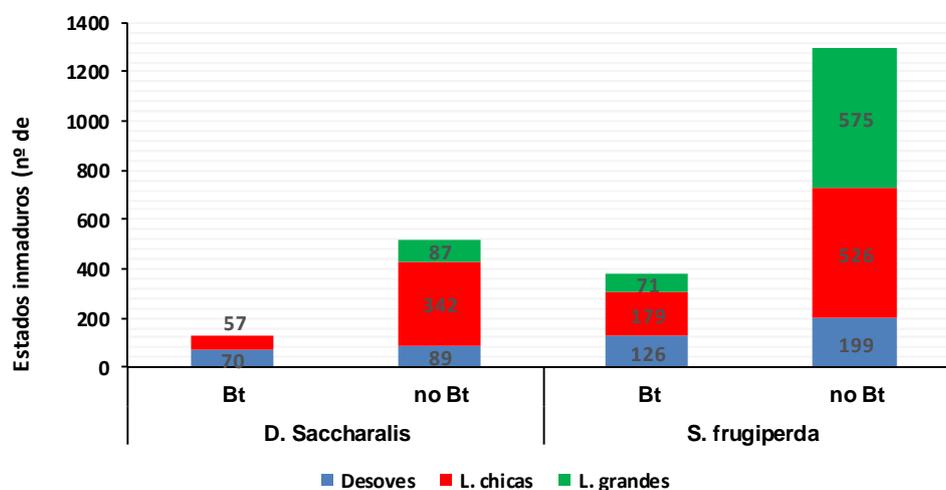


Figura 2.2: Abundancia total por estado inmaduro de *D. saccharalis* y *S. frugiperda*, en los híbridos *Bt* y no *Bt* en los cinco años de muestreos.

En general, las posturas de *S. frugiperda* siempre se ubicaron en el envés de las hojas, pero algunas se encontraron en el haz. Independientemente de su ubicación, la presencia de las mismas siempre estuvo restringida a los estados V_2 - V_4 , (cuando las plantas tenían entre dos a cuatro hojas desplegadas). Respecto de las larvas, la mayoría de los individuos se encontraron en el cogollo de las plantas. Durante el estado vegetativo temprano (V_4 - V_6), predominaron larvas del primer al tercer estadio, pudiéndose encontrar en algunas ocasiones, hasta cinco larvas por planta, mientras que en los estados fenológicos más avanzados por lo general, se encontró un individuo por planta.

Una de las cuestiones importantes de destacar es que en los cultivos *Bt*, existió un atraso en el ciclo, en relación al cultivo convencional, con la aparición de las larvas más tardíamente que en los maíces convencionales, lo que nos podría hacer presumir un alargamiento del ciclo de la plaga en los maíces *Bt*, ya que las posturas se encontraron en las mismas fechas de muestreos, si bien esta cuestión debe ser estudiada particularmente (Fig. 2.3).

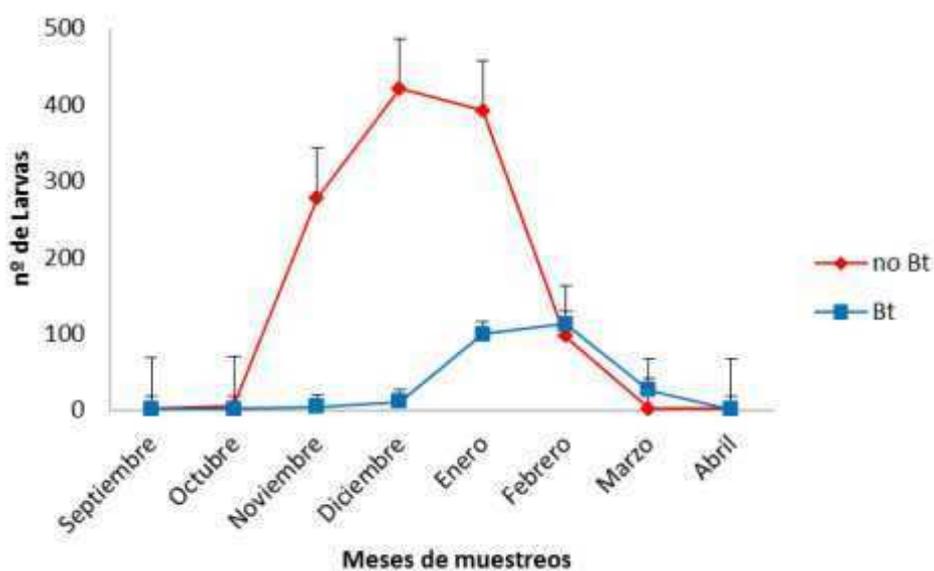


Figura 2.3: Número de larvas (\pm DE) de *S. frugiperda* por parcela durante el ciclo de los maíces Bt y no Bt.

Las larvas de *S. frugiperda*, en los maíces Bt no llegaron a causar daños severos en las plantas (daño grado 1 y 2) según escala de Fernández & Expósito (2000), remitiéndose el mismo sólo a pequeños perforaciones en las hojas (Fig. 2.4). En tanto en los maíces convencionales, se observaron daños severos grado 3, 4 y 5 en el cogollo del 75% de las plantas monitoreadas (Fig. 2.5) (Fernández & Expósito, 2000).



Figura 2.4: Daño de *S. frugiperda* grado 1 y 2 en hojas de plantas de maíces con genotipo Bt.



Figura 2.5: Daño de *S. frugiperda* grado 3, 4 y 5 en plantas de maíces con genotipono Bt.

Incidencia de parasitoides de Lepidoptera

Se registró la presencia de representantes de tres familias de parasitoides de lepidópteros: Ichneumonidae, Braconidae y Trichogrammatidae.

La mayoría de los individuos se encontraron en estado adulto. Entre los ichneumónidos el principal género fue *Ophion* sp., seguido por *Casitaria* sp. (Blanch.). La abundancia en los maíces no Bt fue del 74,0% y del 26,0% para *Ophion* sp. y *Casitaria* sp., respectivamente, mientras que en el híbrido modificado genéticamente, los porcentajes fueron del 88,0% en el caso de *Ophion* sp. y del 12,0 % restante a *Casitaria* sp (Fig. 2.6).

En el caso de los braconidos, el único género parasitoide de larvas de Lepidoptera identificado fue *Apanteles* (*Cotesia*) sp., con una abundancia relativa un 43,0% mayor en los maíces no Bt. (Fig. 2.6).

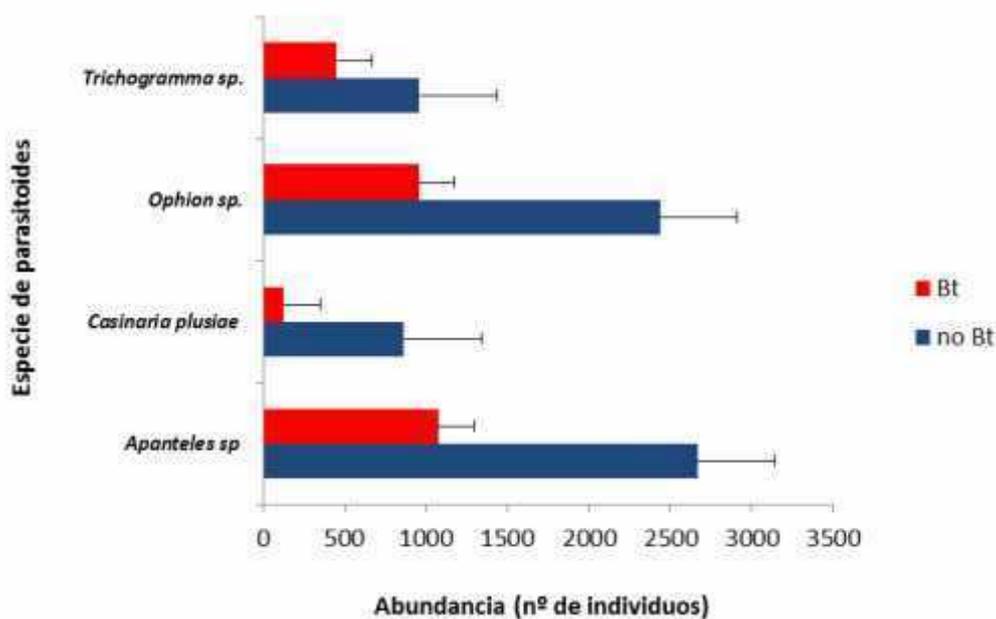


Figura 2.6: Abundancia (\pm DE.) de parasitoides adultos en los maíces *Bt* y no *Bt*.

Al analizar el parasitismo larval, se determinó que fue del 2,0% en los maíces *Bt* y del 4,0% en los no *Bt.*, correspondiéndole a los braconidos el 56,0% del total. Esta relación fue similar en ambos híbridos estudiados.

Respecto a los parasitoides de huevos de lepidópteros, se encontraron individuos de la familia Trichogrammatidae, con el género *Trichogramma sp.* Para determinar el porcentaje de parasitismo se tomaron desoves de *S. frugiperda* (ya que fueron más abundantes que los de *D. saccharalis*). En los maíces no *Bt*, se tomaron 37 desoves, de los cuales 11 presentaron huevos parasitados (30,0%), mientras que en los maíces *Bt* de los 25 desoves, 6 presentaron huevos parasitados (24,0%). El promedio de huevos por desove fue 115, siendo el porcentaje de parasitismo del 70,0 y del 73,0% en el híbrido convencional y transgénico, respectivamente. Por lo que el porcentaje de parasitismo de huevos no se vio afectado por el tipo de maíz.

DISCUSIÓN

Se pudo observar un eficiente control de los cultivos transgénicos sobre las plagas objetivas, ya que la abundancia de lepidópteros en los cultivos *Bt* fue muy reducida en comparación con los no *Bt*, obteniendo resultados similares, Williams *et al.* (1998). Sin embargo, no se observaron diferencias tan marcadas en las oviposiciones de los mismos entre los cultivos *Bt* y no *Bt*. Esto fue corroborado en otros trabajos (Hellmich *et al.*, 1999; Fernández, 2002; Giaveno *et al.*, 2010) en los que se demostró que las hembras de distintos lepidópteros no discriminan entre los cultivos *Bt* y no *Bt* al realizar las oviposiciones. Por otro lado, la no preferencia por el lugar de oviposición es un mecanismo importante en la tolerancia a plagas en maíz (Williams *et al.*, 1997). Resultados similares fueron observados para *Ostrinia nubilalis* (Hellmich *et al.*, 1999; Pilcher & Rice, 2001). Para el caso de *S. frugiperda*, la mayoría de las oviposiciones se dieron en la cara inferior de las hojas (datos no presentados), esta preferencia por parte de las mariposas fue informada también por Menezes *et al.* (1991).

También es razonable el haber encontrado larvas chicas de lepidóptero en los maíces *Bt* ya que estas pueden sobrevivir un tiempo sobre el cultivo; en principio se alimentan, luego de un tiempo, dejan de hacerlo por el efecto de la toxina y a los pocos días mueren, por lo que a pesar de encontrar larvas chicas no se observaron daños (Rice, 2001).

Respecto a *D. saccharalis* la abundancia fue baja tanto en los cultivos *Bt* como en los convencionales, encontrándose en los maíces transgénicos sólo larvas chicas, en los maíces no *Bt*, si bien se encontraron larvas grandes estas no alcanzaron un número importante.

Para las larvas de *S. frugiperda* especialmente, fueron notorias las diferencias entre ambos cultivos ya que en el maíz *Bt* si bien se encontraron larvas no existió daño visible, en tanto que en el maíz no *Bt* la cantidad de larvas fue sustancialmente mayor, así como también el daño. Reducciones importantes en el tamaño de la población de larvas debido al efecto de la proteína *Cry IAb* fueron informados por Williams *et al.* (1997). Resultados semejantes fueron obtenidos por Waquil *et al.* (2002).

Algunos autores han reportado una importante disminución en el consumo de área foliar por las larvas de *S. frugiperda* en los maíces *Bt* en comparación con los convencionales (Giaveno *et al.*, 2010).

Respecto a los enemigos naturales, merece especial atención la ubicación en que se sitúa *S. frugiperda*, cuyas larvas se desarrollan en el brote terminal (cogollo) de la planta de maíz, donde cohabita una comunidad de insectos con diferentes hábitos, tales como predadores, parasitoides, hiperparasitoides, entomopatógenos, coprófagos, micófagos, entre otros. El cogollo posee características muy particulares, pues las hojas se desarrollan semi-enrolladas unas con otras, hay menor incidencia de las corrientes de aire, de la radiación solar y mayor humedad relativa, condiciones que propician una buena protección a los primeros estadios larvales y a sus enemigos naturales.

La reducción paulatina de poblaciones de larvas de *S. frugiperda*, así como la acumulación de cadáveres de larvas jóvenes infectadas por la bacteria *Bt*, contribuirán a desequilibrios poblacionales del complejo de artrópodos que allí se desarrollan.

Los endoparasitoides koinobiontes, presentan una especificidad mucho mayor que los depredadores, además de una sincronización de los ciclos vitales con sus huéspedes (Godfray, 1994). Al igual que los estudios de Pilcher *et al.*, (2005), en el presente estudio se han encontrados diferencias en la abundancia relativa de los parasitoides entre los cultivos *Bt* y no *Bt*; esto podría deberse a que los parasitoides en el campo son guiados por una serie de compuestos volátiles emitido por las plantas en respuesta al ataque de los herbívoros plagas (Shiojiri *et al.*, 2002; Lo Pinto *et al.*, 2004). Como se registran menores daños en los cultivos transgénicos, no solo disminuye la concentración de estos volátiles en estos genotipos, sino que además se registran diferencias cualitativas en su composición (Dean & De Moraes, 2006). Esto llevaría a la emigración de los enemigos naturales a ambientes con mayor número de señales (Johnson, 1997).

Nuestros estudios coinciden con lo reportado por White & Andow (2003), que las poblaciones de los enemigos naturales pueden verse reducidas porque los cultivos no contienen los huéspedes apropiados y también por la falta de señales químicas por parte de los cultivos *Bt*, debido a la mejor sanidad de los mismos (Dean & De Moraes, 2006).

CONCLUSIONES

Las poblaciones de larvas de *D. saccharalis* disminuyoen los maíces *Bt*.

En los maíces *Bt* si bien se encontraron larvas de *S. frugiperda*, estas no fueron muy abundantes y no se pudo observar daño de consideración.

Las familias y especies de parasitoides encontradas en ambos maíces fueron las mismas.

Los maíces no *Bt* presentaron mayor abundancia de parasitoides, pero los porcentajes de parasitismo efectivo fueron similares en los dos híbridos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALONSO ÁLVAREZ, R. (1991). Reseña histórica y aspectos bioecológicos del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith). In: Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (El gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. ZULUAGA, J. L. & G. MUÑOZ (comp., ed.) Calí, Colombia. 12-14.
- ALONSO, S. N. & F. N. MIGUEZ (1984). El barrenador del tallo del maíz. Crea. 109: 20-30.
- ALVARADO, L.; J. BASAIL; J. BONEL; J. BRASESCO; A. CODROMAZ DE ROJAS; A. CONDE; A. COSCIA & E. DAGOBERTO (1980). El cultivo del maíz. INTA. 88-102.
- ANDREWS, K. L. (1988). Latin America research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomol. 71 (4): 630-653.
- ARAGÓN, J. (1996). Las principales plagas del cultivo. Métodos de control. Crea: Maíz. Cuaderno de actualización técnica 57: 51-61.
- ARAGÓN, J. (2000). Sistema de alarma de plagas agrícolas con trampas de luz y observaciones de campo. http://www.mjuarez.inta.gov.ar/zoo/Sap_1298.htm
- ARTIGAS, J. N. (1994). Entomología Económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos). Edic. Universidad de Concepción, Chile. 2: 943pp.
- ASA. (2002). Utilización de refugios en maíces Bt. Programa de Productividad Sustentable. Asociación Semilleros Argentinos. Buenos Aires. 8p.
- BOHOROVA, N. E.; B. LUNA; R. M. BRITO; L. D. HUERTA & D. A. HOISINGTON (1995). Regeneration potential of tropical, subtropical, mid altitude, and highland maize in breeds. Maydica 40: 275-281.
- BUNTIN, G.; J. ALL; R. DEWEY LEE & D. WILSON (2004). Plant-incorporated *Bacillus thuringiensis* resistance for control of Fall Armywar and corn Earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. J. Econ. Entomol. 97: 1603-1611.

- CARPENTER, J. E. & J. R. YOUNG (1991). Interaction of inherited sterility and insecticide resistance in the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 84: 25-27.
- CLAVIJO, S. & G. PÉREZ GREINER (2000). Protección y sanidad vegetal (capítulo 6), Insectos plagas del maíz (sección 2). En: FONTANA NIEVES, H. & C. GONZÁLEZ NARVÁEZ (eds.), Fundación Polar, Caracas, Venezuela, pp. 345-361.
- DAGOBERTO, E. & R. LECUONA (1982). Dinámica poblacional de *Diatraea saccharalis* (F) (Lepidoptera: Piralidae) e incidencia del daño en el cultivo. Carpeta de producción vegetal. Maíz. INTA, EEA Pergamino. Bs. As. Arg. IV (44). pp. 8.
- DEAN, J. M. & C. M. DE MORAES (2006). Effects of genetic modification on herbivore-induced volatiles from maize. *J. Chemistry Ecol.* 32(4): 713-724
- DI RIENZO J. A.; M. G. BALZARINI; L. GONZÁLEZ; F. CASANOVES; M. TABLADA & C. W. ROBLEDO (2011). InfoStat, versión 2013, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- EPA. (2001). *Bt-Plant Incorporated Protectants*. Biopesticides registration action document. Disponible en: [http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt-brad 2/3 ecological pdf](http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt-brad%202%2F3%20ecological.pdf).
- FAKRUDIN, B.; B. PATIL; V. VIJAYKUMAR; K. B. KRISHNAREDDY; S. H. PRAKASH & M. S. KURUVINASHETTI (2004). *Genetic variation of actin gene of Helicoverpa armigera Hübner* (Lepidoptera: Noctuidae). Genetic structure of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hubner) populations occurring in South Indian cotton ecosystems using RAPD markers. In: International Symposium on “Strategies for Sustainable Cotton Production-A Global Vision held at University of Agricultural Sciences. Dharwad, India. pp. 104-109.

- FERNÁNDEZ, N. (2002). Scaramuza Pandini: una personalidad en la historia de la sanidad vegetal, Fitosanidad. La Habana. 6(2):51-61.
- FERNÁNDEZ J. L. & I. E. EXPÓSITO (2000). Nuevo método para el muestreo de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en el cultivo del maíz en Cuba. Centro Agrícola 27, 32-38.
- FORJAN, H. (2002). Hacia una Agricultura Sustentable. Chacra Experimental Integrada Barrow. Convenio INTA-Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires.
- GIAVENO, C. D.; A. S. PARAVANO; M. CELLA & C. M. CURIS (2010). Efecto de diferentes maíces Bt en la biología de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista FAVE - Ciencias Agrarias. 9 (1-2).
- GODFRAY, H. C. J. (1994). Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. Princeton, New Jersey.
- GRECO, N. (1995). Densidad y número de generaciones de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) en el maíz de la zona marginal sur de la región maicera típica de la Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía 71 (1): 61-66.
- GROOT, A. T. & M. DICKE (2002). Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. The Plant J. 31: 387-406.
- HELLMICH, R. L.; L. S. HIGGINS; J. F. WITKOWSKY; J. E. CAMPBELL & L. C. LEWIS (1999). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in response to various transgenic corn events. J. Econ. Entomol. 92: 1014-1020.
- IANNONE, N. (2001). Control químico de *Diatraea* tecnología que apunta a la alta producción. Revista de tecnología agropecuaria. Divulgación técnica del INTA Pergamino. VI (17): 33-37.
- IGARZÁBAL, D.; P. FICHETTI & M. TOGNELLI (1994). Claves prácticas para la identificación de larvas de Lepidoptera en cultivos de importancia agrícola en Córdoba (Argentina). Guayana Zoology 58 (2): 99-142.

- JOHNSON, M. T. (1997). Interaction of resistant plants and wasp parasitoids of tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 26: 207-214.
- LEIVA, P. D. & N. IANNONE (1993). Bioecología y daños del barrenador del tallo *Diatraea saccharalis* Fab. En: Maíz. Carpeta de producción vegetal. INTA Pergamino. Bs As. XII (113). pp 5
- LO PINTO, M.; E. WAJNBERG; S. COLAZZA; C. CURTY & X. FAUVERGUE (2004). Olfactory response of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid-infested plants from a distance. *Entomol. Exper. Appl.* 110:159-64.
- LÓPEZ, E. M.; M. J. L. HERNÁNDEZ; R. A. PESCADOR; O. J. MOLINA; G. R. LEZMA; J. J. HAMM & B. R. WISEMAN (1999). Biological differences between five populations of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) collected from corn in Mexico. *Florida Entomologist* 82(2): 254-262.
- LÖVEI G. L. & S. ARPAIA (2005). The impact of transgenic plants on natural enemies: a critical review of laboratory studies. *Entomol. Exper. Appl.* 114:1-14.
- MALO, E. A.; L. CRUZ; M. VALLE; A. VIRGEN; A. SANCHEZ & J. C. ROJAS (2001). Evaluation of commercial pheromone lures and traps for monitoring male fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the coastal region of Chiapas, Mexico. *Florida Entomology* 84(4): 659-664.
- MANACHINI. B.; M. AGOSTI & I. RIGAMONTI (1999). Environmental impact of *Bt*-corn on non "target" entomofauna: synthesis of field and laboratory studies. Human and environmental exposure to xenobiotics. Proceedings of the XI Symposium Pesticide Chemistry 873-882.
- MARTINELLI, S.; P. L. CLARK; M. I. ZUCCHI; M. C. SILVAFILHO; J. E. FOSTER & C. OMOTO (2007). Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton field in Brazil. *Bull. Entomol. Res.* 97: 225-231.

- MENEZES, L. F.; C. TEODOSIU & A. MAKINOCHI (1991) 3-D solid elasto-plastic elements for simulating sheet metal forming processes by the finite element method. Proceedings of the FE-Simulation of 3-D Sheet Metal Forming Processes in Automotive Industry. Verein Deutscher Ingenieure, Dusseldorf, pp. 381-403.
- MURILLO, A. (1991). Distribución, importancia y manejo del complejo *Spodoptera* en Colombia. In: ZULUAGA, J. L. & G. MUÑOZ. Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (El gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. Cali, Colombia. 15-23.
- NAVARRO, F. R.; E. D. SAINI. & P. D. LEIVA (2009). Clave pictórica de polillas de interés agrícola. INTA EEA Pergamino (Ed.).96 pp.
- ORR, D. B. & D. A. LANDIS (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. J. Econ. Entomol. 90: 905-909.
- PARISI, R. & E. DAGOBERTO (1979). Observaciones sobre el "Barrenador del Tallo" *Diatraea saccharalis* (F) en la campaña agrícola 1978/79. Carpeta de producción vegetal. Maíz. INTA, E.E.A Pergamino. Bs. As. Arg. II (15). pp. 4.
- PASHLEY, D. P.; M. MCMICHAEL & J. F. SILVAIN (2004). Multilocus genetic analysis of host use, introgression and speciation in host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 97(5): 034-1044.
- PASTRANA, J. A. & J. O. HERNANDEZ (1979). Clave para orugas de Lepidópteros que atacan al maíz en cultivo. RIA. Serie 5, Patología Vegetal 14 (1): 26-45.
- PENGUE, W. A. (2004). Argentine: une agriculture devenue folle?. Dossier L'agroécologie. L'Écologiste. 14 (5.3): 47-49.
- PILCHER, C. D. & M. E. RICE (2001). Effect of planting dates and *Bacillus thuringiensis* corn on the population dynamics of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). J. Econ. Entomol. 94(3): 730-742.

- PILCHER, C. D.; M. E. RICE & J. J. OBRYCKI (2005). Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. *Environ. Entomol.* 34: 1302-1316.
- POGUE, M. G. (2002). A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem. An. Entomol. Soc.* 43. Disponible en: <http://www.sel.barc.usda.gov/lep/spodoptera/spodoptera.html>.
- RICE, M. (2001). Acerca del maíz *Bt*. *Revista Discover*, 28-32.
- SERRA, G. V. (2003). Incidencia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) sobre el rendimiento del cultivo de maíz y comparación de tácticas de manejo químico y resistencia transgénica. Tesis de maestría. UNLaR.
- SHIOJIRI K.; J. TAKABAYASHI; S. YANO & A. TAKAFUJI (2002). Oviposition preferences of herbivores are affected by tritrophic interaction webs. *Ecology Letters* 5: 186-192.
- SIEBERT, W. M.; K. V. TINDALL; B. R. LEONARD; J. W. VAN DUYN & J. M. BABCOCK. (2008b). Evaluation of corn hybrids expressing Cry1F (Herculex® I Insect Protection) against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the Southern United States. *J. Entomol. Sci.* 43 (1): 41-51.
- SISTERSON, M. & B. TABASHNIK (2005). Simulated effects of transgenic *Bt* crops on specialist parasitoids of “target” pests. *Environmental Entomology* 34(4): 733-742.
- STARÝ, P. (1976). Aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) of the Mediterranean Area. Dr. W. Junk, The Hague, Netherlands, 95 pp.
- VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M.; VALICENTE, F. H. & I. CRUZ (2004). Ocorrência e controle de pragas na safrinha de milho nas regiões Norte e Oeste do Paraná. *Embrapa. Circular Técnica* N° 45. 8p.

- VIRLA, E.; M. V. COLOMO; C. BERTA & L. VALVERDE (1999). El complejo de parasitoides del “gusano cogollero” del maíz, *Spodoptera frugiperda*, en la República Argentina. *Neotrópica* 45: 3-12.
- WAQUIL, J. M.; F. M. VILLELA & J. E. FOSTER (2002). Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 1(3): 1-11.
- WHITE, J. & D. ANDOW (2003). Natural enemies and resistance management in *Bt* corn: parasitoids searching behavior and host special distributions. 1st. International Symposium on Biological Control of Arthropods, 292 pp.
- WILLIAMS, W. P.; J. B. SAGERS; J. A. HANTEN; F. M. DAVIS & P. M. BUCKLEY (1997). Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. *Crop Science* 37 (3): 957-962.
- WILLIAMS, W. P., P. M. BUCKLEY, J. B. SAGERS & J. A. HANTEN. 1998. Evaluation of transgenic corn for resistance to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae), fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), and southwestern corn borer (Lepidoptera: Noctuidae) in a laboratory bioassay. *J. Agric. Entomol.* 15: 105-112.
- WILLINK E.; V. M. OSORES & M. A. COSTILLA (1991). El gusano “cogollero”: nivel de daño económico. *Avance Agroindustrial* 12: 25-26.
- WILLINK, E.; M. A. COSTILLA & V. M. OSORES (1990). Principales plagas del maíz: Daños, pérdidas y recomendaciones para la siembra. *Avance Agroindustrial* 11(42): 17-19.
- WILLINK, E.; V. M. Osores & M. A. COSTILLA (1993). Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Rev. Ind. y Agric. de Tucumán* 70(1-2): 49-52.

CAPÍTULO 3

BIODIVERSIDAD DE ARTRÓPODOS BENÉFICOS DE SUELO, DE LAS FAMILIAS CARABIDAE Y ARANEAE, EN MAÍCES *Bt* Y NO *Bt*

RESUMEN

Las raíces del maíz *Bt* liberan la toxina al suelo, adonde pueden permanecer unidas a las partículas. No se sabe si este efecto llevará a largo plazo a una acumulación de la toxina *Bt* del maíz, ni cómo podría afectar a microorganismos o insectos que viven en él, a los cuales no se pretende controlar. Los insectos de la familia Carabidae y las arañas son numéricamente los artrópodos predadores dominantes en el suelo de zonas cultivadas. Los carábidos son importantes depredadores de larvas de lepidópteros plagas y, al igual que las arañas son considerados buenos indicadores de la biodiversidad en los agroecosistemas. El objetivo de este trabajo es cuantificar y comparar la biodiversidad de artrópodos enemigos naturales presentes en el suelo de las familias Carabidae y Araneae, en maíces *Bt* y no *Bt*. Se realizaron muestreos en explotaciones comerciales de la localidad de Pujato Norte departamento Las Colonias (Santa Fe) durante cinco campañas agrícolas (2005 hasta 2010). Anualmente se sembraron dos lotes de 1 ha, uno con maíz *Bt* y otro con convencional. Para la captura de los artrópodos se utilizaron trampas de caída o Pitfall, a razón de cuatro por lote. Se realizaron recuentos semanales desde la siembra hasta la cosecha del cultivo. Se estimaron los siguientes índices ecológicos: Índice de Abundancia Relativa, Diversidad de Especies, Índice de Equidad de Shannon, y se calculó el Índice de Bray & Curtis para comparar las poblaciones de los dos cultivos. Las poblaciones se evaluaron mediante test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados. Los datos se analizaron con el programa InfoStat (versión 2011). No se hallaron diferencias ni en la diversidad ni en la abundancia de las especies de las familias Carabidae y Araneae, así como tampoco en ninguna de las otras familias de artrópodos benéficos de suelo. Las arañas con mayor abundancia en el suelo pertenecieron a la familia Lycosidae.

INTRODUCCION

La liberación al suelo de las proteínas de plantas genéticamente mejoradas (PMG), puede ocurrir de varias formas: mediante la deposición y descomposición de material vegetal (Tapp & Stotzky, 1995; Losey *et al.*, 1999; Zwahlen *et al.*, 2003 a), mediante el proceso de exudación radicular de compuestos, entre los que se encuentran las proteínas *CryIAb* (Walker *et al.*, 2003; Saxena *et al.*, 1999, 2004; Saxena & Stotzky, 2000, 2002; Margarit *et al.*, 2006) y mediante la deposición de polen (Losey *et al.*, 1999).

Saxena *et al.* (1999) demostraron, que las PGM de maíz, que expresan el gen *CryIAb* son capaces de exudar la proteína de *Bt* hacia la rizósfera en un proceso continuo durante todo el ciclo de la planta, cuya permanencia depende de una serie de factores, tales como la composición física del suelo, la actividad microbiológica y de factores abióticos, como la temperatura y las precipitaciones. Saxena & Stotzky (2001) la detectaron durante 180 días luego de la liberación por exudación y, en condiciones de laboratorio, hasta de 350 días luego de la deposición del material vegetal (Saxena *et al.*, 2004).

Las toxinas liberadas se unen a ciertos componentes, donde pueden permanecer por más de 200 días, protegidas de la degradación y manteniendo su capacidad de matar las larvas de insectos (Saxena *et al.*, 1999), característica que puede ser considerada una ventaja, cuando la acción está dirigida a las plagas del suelo, pero se desconoce como podrían afectar a los microorganismos o a los artrópodos “no target”. A este respecto Stotzky (2000) y Dubelman *et al.*, (2005) concluyeron que es poco probable que las proteínas *Cry* tengan efectos negativos, incluso en las enzimas presentes en el suelo.

La toxina *Cry* aumenta en más de 2.500 veces su concentración en los suelos con cultivos *Bt* (Blackwood & Buyer, 2004), pudiendo quedar unidas a las arcillas (Stotzky, 2000). En estudios realizados en laboratorio, Crecchio & Stotzky (1998), demostraron que, a diferencia de las libres, no son degradadas por los microorganismos ni pierden su capacidad biocida, pero que se descomponen lentamente a pH inferiores a 5, condiciones que no son aptas para el crecimiento del maíz, razón por la cual no afectarían a los organismos terrestres. A este respecto, González *et al.* (2005) no

detectaron niveles apreciables en las arcillas de suelos con maíz transgénico, cuyas concentraciones en los restos vegetales, llegan a ser indetectables a partir de la semana 17 posteriores a la cosecha. Cortet *et al.* (2006) concluye que, después de 4 meses las toxinas *Bt* no afectan los procesos de descomposición de la materia orgánica por los microorganismos.

Sims & Martin (1997), Escher *et al.* (2000), Saxena & Stotzky (2001) y Koskella & Stotzky (2002) no encontraron efectos de la toxina en organismos tales como, Collembola, Isopoda, protozoos, nematodos, hongos, bacterias, algas y lombrices. Sin embargo, Blackwood & Buyer (2004) observaron efectos negativos sobre la comunidad microbiana.

Muchos artrópodos benéficos del suelo son considerados indicadores de la diversidad de los sistemas agrícolas, entre ellos los representantes de Carabidae (Coleoptera), depredadores de larvas de lepidópteros de los cultivos extensivos (Lövei & Sunderland, 1996; Oliver & Beattie, 1996; Pearce & Venier, 2006), y las arañas (Billeter *et al.*, 2008). Los carábidos constituyen un grupo ampliamente utilizado para estudiar el efecto de ciertos manejos agrícolas en las poblaciones de artrópodos benéficos (Cole *et al.*, 2002; Purtauf *et al.*, 2005), ya que son coleópteros abundantes en los sistemas agrícolas y tienen un rol importante en el control de plagas, dado que son depredadores generalistas (O'neal, 2005). Además, son bastante móviles y sensibles a las condiciones ambientales y de hábitat, por lo que el estudio de las comunidades de carábidos constituye un buen bioindicador de calidad de los agroecosistemas (Lövei & Sunderland, 1996). Por otra parte, el monitoreo de estos insectos es sencillo, para lo cual se utilizan trampas de caída o pitfall, metodología que, si bien no está exenta de controversia (Holland & Smith, 1999), ha demostrado ser útil para determinar la diversidad, abundancia y/o actividad de estos coleópteros (Baars, 1979; Raworth, 2001).

Las arañas han ganado una amplia aceptación en los estudios ecológicos como indicadores de calidad ambiental (Clausen 1986, Maelfait *et al.*, 1990, Willett, 2001, Pinkus Rendón *et al.* 2006, Tsai *et al.*, 2006), ya que las comunidades de arañas han mostrado ser fuertemente influenciadas, y de manera predecible, por el tipo de hábitat y el patrón de uso de la tierra (Weeks & Holtzer 2000).

Manachini *et al.* (1999) no encontraron diferencias significativas en las poblaciones de carábidos entre los maíces *Bt* y no *Bt*, mientras que Harwood *et al.* (2005) mencionan que, los representantes de los Araneae monitoreados en maíces transgénicos contenían importantes cantidades de la endotoxina *CryIAb*, indicando que los efectos se trasladan a los niveles tróficos superiores.

Debido al gran cuestionamiento del efecto de los cultivares *Bt* sobre los organismos del suelo, especialmente los benéficos, es necesario profundizar los estudios que permitan evaluar su impacto en estas comunidades de invertebrados (Altieri, 2000).

OBJETIVO

Cuantificar y comparar la biodiversidad de artrópodos benéficos de suelo de la Familia Carabidae y Araneae, en maíces *Bt* y no *Bt*.

MATERIALES Y METODOS

Los muestreos de los artrópodos del suelo se realizaron en los mismos lotes de maíz y durante las cinco campañas agrícolas consecutivas, cuyas características fueron detalladas en capítulos anteriores.

Para determinar el efecto de los maíces transgénicos y convencionales, en la población de artrópodos terrestres, se utilizaron trampas de caída (“pitfall”) (Fig. 3.1). Las mismas consistieron en recipientes de plástico de 10 cm de alto, 6 cm de diámetro inferior y 7,5 cm de diámetro superior, los que fueron enterrados, quedando su parte superior al ras del suelo y se llenaron una solución de ácido acético al 6%, el que fue semanalmente renovado, con el fin de facilitar la conservación de los artrópodos. Hasta el momento estas trampas son el método mejor conocido y más ampliamente utilizado en el estudio de poblaciones de artrópodos del suelo en los ecosistemas agrícolas (Duelli *et al.*, 1999).

En cada lote, se colocaron 4 trampas equidistantes (Manachini *et al.*, 1999) con una frecuencia semanal las capturas se introdujeron en frascos, debidamente etiquetados y se llevaron al laboratorio de la cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias (Esperanza), donde fueron conservados en recipientes Eppendorf® (1,5 mm) con alcohol 70°, para su posterior identificación.

Los reconocimientos se realizaron bajo lupa esterocópica de 40x (Olympus SZ40), para tal fin en el caso de las arañas se utilizaron las obras de Kaston (1978) y Foelix (1982) y para los carábidos las de Martínez (2005) y Choate (2001). Para los demás artrópodos las identificaciones fueron a nivel de orden utilizando la obra de Barrientos (1988).



Figura 3.1: Aspectos que presentaron las trampas de caída (“pitfall”), utilizadas en el trabajo.

Análisis de los Datos

A partir del análisis de las muestras se confeccionaron tablas de abundancia relativa de las especies, lo cual permitió la estimación de índices ecológicos (Martínez *et al.*, 2009; Armendano & González, 2010).

Los índices de diversidad aplicados fueron Alfa, que permiten estimar la diversidad dentro de una comunidad e índices Beta, que estima el cambio en la diversidad entre dos o más comunidades. Siguiendo las pautas de Martínez *et al.* (2009)

y Armendano & González (2010), para la diversidad Alfa se aplicaron: 1) Índice de Abundancia Relativa, 2) Índice de Diversidad de Especies, 3) Índice de Equidad de Shannon y, para la diversidad Beta, se calculó el Índice de Bray & Curtis.

Para ello las especies de arañas fueron agrupadas en gremios (Root, 1967; Uetz *et al.*, 1999) según los siguientes criterios que hacen al tipo de recurso explotado y forma de obtenerlo: tamaño del adulto, estrato donde preferentemente vive, hábitos de desplazamiento y período de actividad. De acuerdo a la bibliografía mencionada, se estipularon los siguientes gremios:

- I) Arañas de tamaño pequeño a mediano (hasta 10 mm), deambuladoras, que ocupan los niveles medio y superior de las plantas, cazan al acecho confundiendo con el sustrato por sus colores miméticos y con actividad preferentemente diurna (Thomisidae, Anyphaenidae y Philodromidae)
- II) Similar al anterior, excepto que las arañas son en general de colores vivaces y cazan desplazándose por el sustrato con actividad diurna o nocturna, de buena visión (Salticidae y Oxyopidae).
- III) Arañas de tamaño mediano (10-15 mm), sedentarias, ocupan los niveles medio y superior de las plantas, cazan sus presas mediante telas orbiculares que tejen entre los tallos de las plantas y tienen actividad crepuscular y nocturna (Araneidae excepto el género *Alpaida*).
- IV) Semejante al anterior, se diferencia por ocupar preferentemente el nivel inferior de la vegetación (género *Alpaida*).
- V) Arañas de tamaño mediano-grande (15-20 mm), deambuladoras, ocupan preferentemente el suelo, cazan desplazándose por el sustrato y tienen actividad preferentemente nocturna (Lycosidae y Gnaphosidae).
- VI) Arañas de tamaño pequeño-mediano (5-12 mm), sedentarias, ocupan los niveles bajos de la vegetación y el suelo, cazan sus presas mediante telas irregulares, a veces enmarañadas (Theridiidae, Corinnidae, Linyphidae y Dytinidae).

Los datos se analizaron estadísticamente con el programa InfoStat (versión 2011). Para determinar diferencia entre tratamientos se realizó un test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados.

RESULTADOS

Se recolectaron un total de 24.251 artrópodos en las cinco campañas agrícolas, siendo 9.479 benéficos, de los cuales 5.144 y 4.479 correspondieron a los maíces no Bt y Bt, respectivamente (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1: Abundancia de artrópodos benéficos de suelo en maíces Bt y no Bt.

Familias	Genero y especie	Abundancia	
		no Bt	Bt
Carabidae	<i>Calosoma argentinensis</i>	1116	974
	<i>Galerita collaris</i>	702	150
	<i>Scarites</i> sp.	110	56
Thomisidae	<i>Misumenopssp1, Misumenops</i> sp.2, <i>Misumenops</i> sp.3, <i>Misumenops</i> sp, 4	134	97
Lycosidae	<i>Lycosasp1, Lycosa</i> sp.2, <i>Lycosa</i> sp.3, <i>Lycosa</i> sp4, <i>Lycosa</i> sp 5	431	311
Araneidae	<i>Alpaida</i> sp., sp.2, sp.3 sd.	224	199
Oxyopidae	sp.1, sp. 2, sp.3 sd.	43	99
Anyphaenidae	<i>Gayenna</i> sp.	32	42
Forficulidae	<i>Dorus luteipes</i>	720	843
Sarcophagidae	sd.	1632	1708
TOTAL		5.144	4.479

Referencia: sd.= sin identificar

No se hallaron diferencias significativas en la abundancia de la fauna benéfica del suelo entre ambos cultivos, según la aplicación del test de Mann-Whitney, el cual arrojó un valor de $p=0,5798$ (Fig. 3.2).

Los órdenes más abundantes, con el 80% del total de las capturas, fueron Coleoptera (familia Carabidae) y Araneae (familias Lycosidae, Araneidae, Oxyopidae, Thomisidae y Anyphaenidae). También se recolectaron ejemplares del orden Dermaptera y de Diptera (familia Sarcophagidae). Esta última con abundancia relativa elevada (Fig. 3.3).

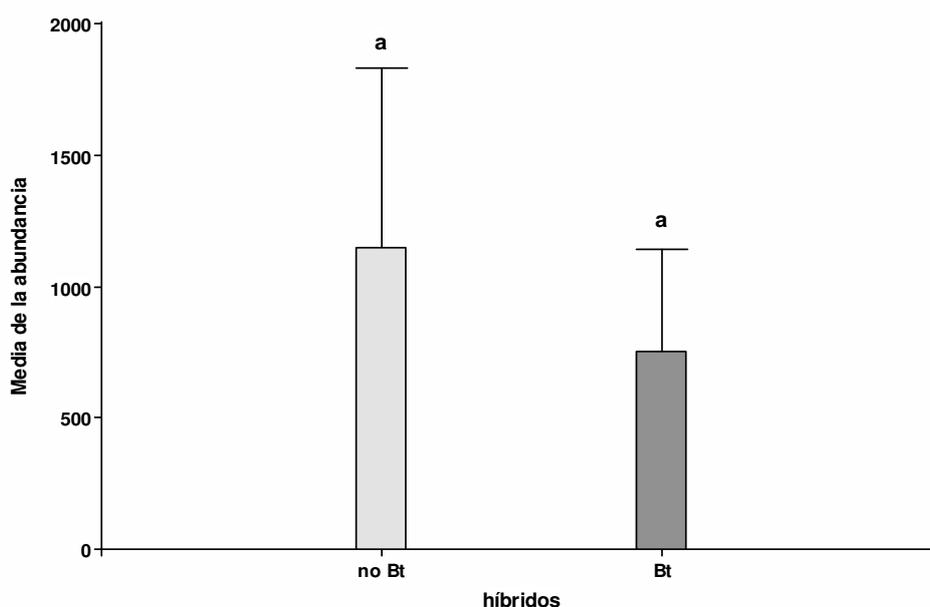


Figura 3.2: Abundancia media (\pm DE) de artrópodos benéficos del suelo, en los maíces no Bt y Bt.

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas.

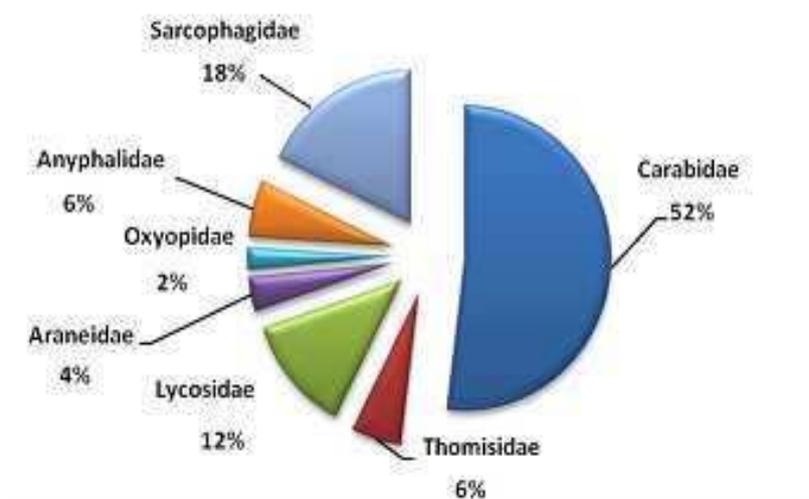


Figura 3.3: Proporción de las familias de artrópodos enemigos naturales recolectados con trampas de caída.

Al comparar la diversidad de especies en las dos comunidades de maíz, el Índice de Shannon- Wiener (H') arroja un valor semejante para ambos maíces (Cuadro 3.2). Del mismo modo, el índice de equitatividad ($E_{H'}$) al ser parecidos entre sí, indica que la relación entre la abundancia de cada especie fue muy similar en los dos híbridos analizados (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2: Abundancia, índice de Diversidad específica (H'), índice de Equitatividad ($E_{H'}$) de los artrópodos benéficos en el maíz Bt y no Bt.

Cultivo	Abundancia	H'	$E_{H'}$
Maíz no Bt	5.144	2,61797	0,90
Maíz Bt	4.479	2,54940	0,88

Por último el índice de Bray & Curtis indica una alta similitud en ambas comunidades, con un valor de 0,92 para los artrópodos benéficos de suelo, teniendo en

cuenta que este índice de similitud tiene un valor 1 cuando las dos comunidades son idénticas.

La familia Carabidae, fue la más abundante, con dos especies identificadas: *Calosoma argentinensis* (Csiki) (subfamilia Carabinae, tribu Carabina), la especie más abundante en ambos híbridos; *Gallerita collaris* (Dejean) (subfamilia Harpalinae, Galeritini). Por último se recolectaron representantes de *Scarites* (Fab.) spp. (subfamilia Scaritinae, tribu Scaritini). Como se observa en el cuadro 3.3 existieron diferencias significativas en la abundancia de las distintas especies en algunos meses del desarrollo del cultivo de maíz. *C. argentinensis* fue la especie más abundante en todos los meses monitoreados, con picos poblacionales en verano. Fue la única especie presente en el mes de diciembre, momento en que se da el pico poblacional, que si bien disminuye en enero se mantuvo con respecto a las restantes especies encontradas. *Gallerita collaris* y *Scarites* spp. con pocos individuos colectados presentaron un comportamiento semejante, aunque, las capturas de la primera comenzaron a partir de octubre y *Scarites* sp. fue de aparición más tardía, con capturas a partir de de noviembre, (cuadro 3.3).

Si bien en el maíz convencional los carábidos fueron más abundantes, no se observaron diferencias significativas al comparar la abundancia con el híbrido *Bt*, en ninguno de los meses muestreados (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.3: Abundancia (media mensual \pm desvío estándar) de géneros de carábidos presentes en el maíz.

Géneros	Meses							
	Sept.*	Oct.*	Nov.*	Dic.*	En.*	Feb.*	Mar.*	Abr.*
<i>Calosoma</i>	26,0 \pm 7,0 b	35,0 \pm 14,1 a	82,0 \pm 21,2 a	419,0 \pm 74,2 b	382,0 \pm 4,9 b	190,0 \pm 90,5 a	28,0 \pm 7,0 a	5,5 \pm 7,7 a
<i>Galerita</i>	0,0 a	5,5 \pm 7,7 a	50,5 \pm 37,4 a	150 \pm 131,0 a	120,0 \pm 83,0 a	82,0 \pm 106 a	17,6 \pm 4,0 a	4,5 \pm 6,3 a
<i>Scarites.</i>	0,0 a	0,00 a	11,5 \pm 2,1 a	34 \pm 15,5 a	33,5 \pm 20,5 a	8,0 \pm 5,6 a	4,0 \pm 5,6 a	0,0 a

*Letras igualasen la columna no son significativamente diferente según el Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas.

Cuadro 3.4: Abundancia (media mensual \pm desvío estándar) del total de carábidos, en los híbridos de maíz no Bt y Bt.

Cultivo	Meses							
	Sept.*	Oct.*	Nov.*	Dic.*	En.*	Feb.*	Mar.*	Abr.*
no Bt	10,3 \pm 17,9 a	18,6 \pm 23,6 a	62,3 \pm 43,8 a	218,3 \pm 162,4 a	204,3 \pm 170,4 a	141 \pm 121,7 a	19,0 \pm 9,6 a	3,6 \pm 5,2 a
Bt	7,0 \pm 12,1 a	8,3 \pm 14,4 a	33,6 \pm 29,7 a	184 \pm 249,3 a	153 \pm 196,8 a	45,6 \pm 69,5 a	11,3 \pm 18,7 a	3,6 \pm 6,3 a

*Letras igualasen la columna no son significativamente diferente según el Test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras apareadas.

Dentro del Orden Araneae, la familia con mayor abundancia en la superficie del suelo fue Lycosidae (gremio V), que representó el 49% del total de los arácnidos colectados y de la cual se identificaron cinco especies pertenecientes al género *Lycosa* (Latreille). La segunda familia más abundante fue Araneidae (gremio IV), representada por el género *Alpaida* (Pickard-Cambridge) sp. y dos especies no identificadas. De la familia Thomisidae (gremio I), se identificaron cuatro especies del género *Misumeno ps* (Pickard-Cambridge). Siguen en importancia Oxyopidae (gremio II), representada por tres especies que no se pudieron identificar y por último la familia Anyphaenidae (gremio I), de la cual se identificó el género *Gayenna* (Nicolet) spp. Los representantes de Oxyopidae y de Thomisidae posiblemente hayan sido capturados en las trampas de caída, accidentalmente ya que su abundancia y hábitos de vida están más relacionados con el estrato herbáceo (Root, 1967; Uetz *et al.*, 1999).

Considerando la abundancia relativa por gremios, el más abundante fue el gremio II, de hábitos deambuladores nocturnos (familia Lycosidae), seguido por los sedentarios que ocupan el estrato más bajo de la vegetación (gremio V) y en tercer lugar siguieron los tomísidos (gremio I) que si bien se mueven en los estratos superiores y medios de la planta, en este estudio fueron colectados en un número importante en las trampas de caída (Root, 1967; Uetz *et al.*, 1999).

Se encontraron arañas durante todo el ciclo fenológico del cultivo, observándose el valor máximo de abundancia en el mes de diciembre, con una marcada disminución a medida que nos acercamos al otoño, asociado probablemente al final del ciclo del maíz (Fig. 3.4).

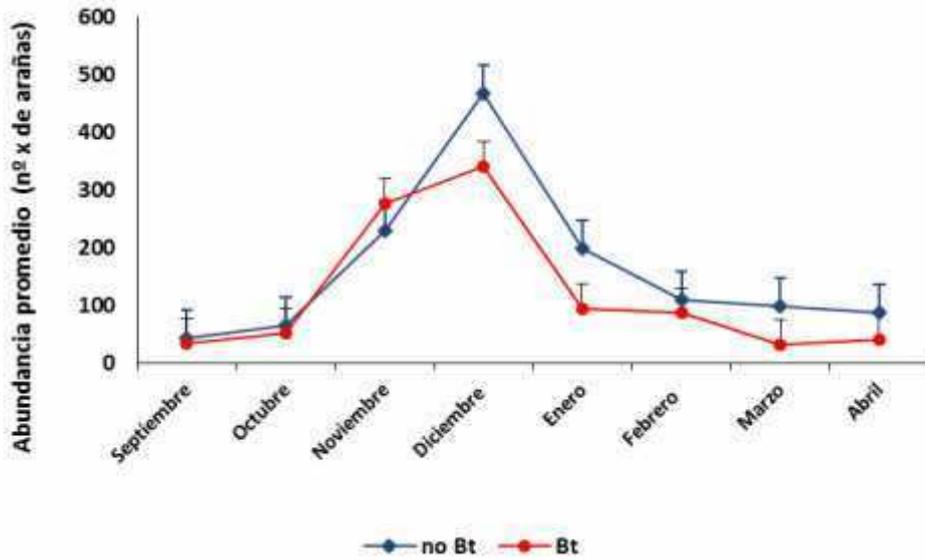


Figura 3.4: Abundancia promedio de arañas (\pm DE) durante el desarrollo fenológico del cultivo de maíz, en los híbridos convencionales y transgénicos.

Como se observa en la fig. 3.5, los picos poblacionales de arañas y carábidos se observaron durante los meses de diciembre, enero y febrero. Durante esos meses la mayor abundancia agrupando a los Carábidos representando el 58; 75 y 79% del total, respectivamente.

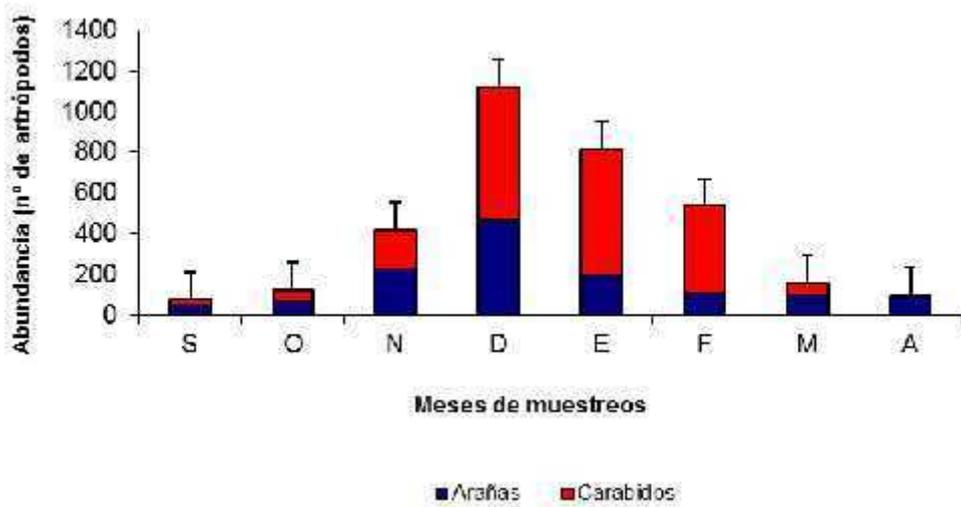


Figura 3.5: Comparación de la abundancia total (\pm DE) de arañas y carábidos capturados con trampas de caída durante el ciclo del maíz.

Las arañas fueron más abundantes que los carábidos durante los meses de primavera y otoño, principalmente durante noviembre, donde representaron el 55% del total de los recuentos. Durante el verano, los recuentos disminuyeron y en el otoño, si bien las poblaciones fueron menores, se mantuvieron constantes, a diferencia de lo mencionado para los carábidos, quienes a partir del mes de marzo comenzaron a bajar drásticamente (Figura 5).

DISCUSIÓN

Algunos trabajos realizados con colémbolos, ácaros (Yu *et al.*, 1997), lombrices o nematodos (Saxena & Stotzky, 2001) no hacen referencia a efectos de la toxina *Bt* sobre estos organismos del suelo, lo que coincidió con los resultados hallados en el presente estudio, donde no se encontraron efectos ni sobre la diversidad de especies ni en la abundancia de artrópodos benéficos del suelo (De la Poza *et al.*, 2005).

En términos generales, los resultados de este estudio son coincidentes con los de otras investigaciones previas que indican que el maíz genéticamente modificado que expresa endotoxinas *Bt*, activas contra lepidópteros plaga, no afectan adversamente la población de artrópodos comunes en el cultivo del maíz, permaneciendo la diversidad de estos organismos inalterada (Bhattí *et al.*;2005).

Por otro lado, la abundancia de carábidos no presentó diferencias entre los maíces convencionales y *Bt*, resultados que coinciden con los hallados por Lozzia (1999) quien no encontró efectos de la toxina sobre estos depredadores. Además, en estudios realizados en laboratorio por Álvarez-Alfageme *et al.* ,(2009) no se detectaron efectos sobre su ciclo de desarrollo, aunque se encontró la toxina en los representantes de esta familia.

Las arañas son las mayores colonizadoras de los sistemas agrícolas (Uetz *et al.*, 1999) y por ende son los depredadores generalistas más comunes en agroecosistemas (Rushton & Eyre 1992; Dippenaar-Schoeman & Jocqué, 1997), constituyendo casi la mitad de la fauna depredadora. (Ferguson *et al.*, 1984; Young & Edwards, 1990). Por su condición generalista, las poblaciones de la mayoría de las especies no dependen de la abundancia de una determinada presa, de acomodar su consumo al nivel de abundancia

(Sabogal & Pinzón, 2001). Uetz *et al.* (1999) encontró que entre el 63-65% de la variación en la riqueza de especies y la diversidad de las arañas fue explicada por la abundancia de artrópodos presa. Balfour & Rypstra (1998) encontraron que las arañas incrementan con el aumento de la calidad de los herbívoros en el sistema.

Dentro de las arañas, la familia Lycosidae fue la más abundante en la superficie del suelo, que coincide con la información reportada por Minervino (1996) y Liljeström *et al.* (2002). Los licósidos han sido reportados por muchos investigadores como el grupo dominante entre las arañas caminadoras de hábitos terrestres (Bultman *et al.*, 1982; Dippenaar-Shoeman & Jocqué 1997; Whitmore *et al.*, 2000), cuyos representantes se caracterizan por buscar sus presas en el suelo y la vegetación baja (Flórez, 1996).

Los tomísidos son muy comunes en la vegetación, se caracterizan por camuflarse con las flores de las plantas utilizando sus coloraciones crípticas y emboscar y capturar a sus presas (Whitmore *et al.*, 2000); estas arañas prefieren el estrato herbáceo por lo que estar en el suelo se podría relacionar con un hecho diferente al de utilizar este recurso como lugar estable de forrajeo. Puede estar relacionada con el hecho que el estrato herbáceo fue considerablemente alto y tupido, lo que facilitó su colecta.

Si bien no existen muchos estudios realizados con arañas, que permitan determinar el efecto de la toxina *Bt*, este trabajo no se encontraron diferencias ni en la diversidad ni en la abundancia de arañas entre los maíces no *Bt* y *Bt*.

En resumen, los resultados de este estudio estaría corroborando las conclusiones de otros informes publicados (Orr & Landis, 1997; Pilcher *et al.*, 1997; Lozzia, 1999 y Zwahlen *et al.*, 2000) respecto de que no hay efectos ocasionados por las plantas transgénicas resistentes a lepidópteros plagas del maíz sobre los organismos benéficos del suelo, que no son objetivo del control.

En el futuro son necesarios más estudios que abarquen una combinación de experiencias de laboratorio, de invernadero y de campo, debido a que la toxina puede tener un comportamiento diferente en diferentes ambientes y la actividad insecticida

puede variar con cambios en la textura y el pH del suelo, así como con las diferentes condiciones climáticas de suelo (Tapp & Stotzky, 1995; Zwhalen *et al.*, 2003 b).

CONCLUSIONES

Las poblaciones de larvas de *D. saccharalis* disminuyen en los maíces *Bt*.

En los maíces *Bt* si bien se encontraron larvas de *S. frugiperda*, estas no fueron muy abundantes y no se pudo observar daño de consideración.

Las familias y especies de parasitoides encontradas en ambos maíces fueron las mismas.

Los maíces no *Bt* presentaron mayor abundancia de parasitoides, pero los porcentajes de parasitismo efectivo fueron similares en los dos híbridos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALTIERI, M. A. (2000). The ecological impacts of transgenic crops on Agroecosystem health. *Ecosystem health* 6: 19-31.
- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; F. ORTEGO; & P. CASTAÑERA (2009). *Bt* maize fed-prey mediated effect on fitness and digestive physiology of the ground predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *J. Insect Physiol.* 55: 143-149.
- ARMENDANO, A. & A. GONZÁLEZ (2010). Comunidad de arañas (Arachnida, Araneae) del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en Buenos Aires, Argentina. *Revista de Biología Tropical* 58: 747-757.
- BALFOUR, R. A. & A. L. RYPSTRA (1998). The influence of habitat structure on spider density in a no-till soybean agroecosystem. *Journal of Arachnology* 26:221-226.
- BHATTÍ, M. A.; J. DUAN; G. HEAD; C. JIANG; M. J. MCKEE; T. E. NICKSON; C. L. PILCHER & C. D. PILCHER (2005). Field evaluation of the impact of corn rootworm (Coleoptera:Chrysomelidae). Protected *Bt* corn on ground-dwelling invertebrates. *Environ. Entomol.* 34(5): 1325-1335.
- BILLETER., R., J.; D. LIIRA; R. BAILEY; P. BUGTER; I. ARENS; S. AUGENSTEIN; J. AVIRON; R. BAUDRY; F. BUKACEK; M. BUREL; G. CERNY; R. DE BLUST; T. DE COCK; H. DIEKÖTTER; J. DIETZ; C. DIRKSEN; W. DORMANN; M. DURKA; R. FRENZEL; F. HAMERSKY; F. HENDRICKX; S. HERZOG; B. KLOTZ; A. KOOLSTRA; D. LAUSCH; J. P. LE COEUR; P., MAELFAIT; M. OPDAM; A. ROUBALOVA; N. SCHERMANN; T. SCHERMANN; O. SCHMIDT; M. J. SCHWEIGER; M. SMULDERS; J. SPEELMANS; J. SIMOVA; W. K. VERBOOM; M. VAN WINGERDEN; M. ZOBEL & P. J. EDWARDS (2008). Indicators for biodiversity in agricultural landscapes: a pan-European study. *J. Appl. Ecol.*45: 141-150.
- BLACKWOOD, C. B. & J. S. BUYER (2004). Soil microbial communities associated with *Bt* and non-*Bt* corn in three soils. *J. Environ. Quality* 33: 832-836.

- BULTMAN, T.; G. W. UETZ & A. R. BRADY (1982). A comparison of cursorial spider communities along a successional gradient. *J. Arachnol.* 10: 23-33.
- CHOATE, P. M. (2001). Manual for the Identification of the Ground Beetles (Coleoptera: Carabidae) (including tiger beetles) of Florida. Dept. Entomology and Nematology University of Florida, Disponible on line: http://www.entnemdept.ufl.edu/choate/florida_carabidae_new.pdf.
- CLAUSEN, I.H.S. 1986. The use of spiders (Araneae) as ecological indicators. *Bull. British Arachnol. Soc.* 7: 83-86.
- COLE, L. (2002). Relationships between agricultural management and ecological groups of ground beetles (Coleoptera:Carabidae) in Scottish farmland. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.93, n.1-3, p.323-336, 2002.
- CORTET, J.; M. N. ANDERSEN; S. CAUL; B. GRIFFITHS & R. JOFFRE (2006). Decomposition processes under *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) maize: Results of a multi-site experiment. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 195-199.
- CRECCHIO, C. & G. STOTZKY (1998). Binding of DNA on humic acids: Effect on transformation of *Bacillus subtilis* and resistance to DNase. *Soil Biology & Biochemistry* 30: 1061-1067.
- DE LA POZA, M., X. PONS; G. P. FARINÓS; C. LÓPEZ; F. ORTEGO; M. EIZAGUIRRE; P. CASTAÑERA & R. ALBAJES (2005). Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Protection* 24: 677-684.
- DI RIENZO J. A.; M. G. BALZARINI; L. GONZÁLEZ; F. CASANOVES; M. TABLADA & C. W. ROBLEDO (2011). InfoStat, versión 2013, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DIPPENAAR-SCHOEMAN, A. S. & R. JOCQUÉ (1997). African spiders, an identification manual. Biosystematics Division, ARC-Plant Protection Research Institute, Pretoria. Handbook 9, 392 pp.

- DUBELMAN, S.; B. R. AYDEN & B. M. BADER (2005). *CryIAb* protein does not persist in soil after 3 years of sustained *Bt* corn use. *Environ. Entomol.* 34: 915-921.
- DUELLI, P.; M. K. OBRIST & D. R. SCHMATZ (1999). Biodiversity evaluation in agricultural landscapes: above-ground insects. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 74: 33-64.
- ESCHER, N.; B. KACH & W. NENTWIG (2000). Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *Basic. Appl. Ecol.* 1: 161-169.
- FERGUSON, M.; P. D. MINOR; D. I. MAGRATH; Q. YI-HUA; M. SPITZ & G. C. SCHILD (1984). Neutralization epitopes on poliovirus type 3 particles: an analysis using monoclonal antibodies. *J. General Virol.* 65: 197-201.
- FLÓREZ, E. (1996). Las arañas del departamento del Valle. Un manual introductorio a su diversidad y clasificación. Inciva-Colciencias. Santiago de Cali.
- FOELIX, R. (1982). *The Biology of Spiders*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press. 306 pp.
- GONZÁLEZ, P.; M. DUQUE & A. FERERES (2001). Persistencia de la toxina *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner) procedente de maíz transgénico en suelos y restos de cosecha. En: II Congreso Nacional de Entomología Aplicada y VIII Jornadas Científicas de la SEEA, 12- 16 Nov. Pamplona.
- HARWOOD, J. D.; W. G. WALLIN & J. J. OBRYCKI (2005). Uptake of *Bt* endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Mol. Ecol.* 14: 2815-2823.
- HOLLAND, J. & S. SMITH (1999). Sampling epigeal arthropods: an evaluation of fenced pitfall traps using mark- release- recapture and comparisons to unfenced pitfall traps in arable crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.91, n.2, p.347-357.

- KOSKELLA, J. & G. STOZKY (2002). Larvicidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *morrisoni* (strain *tenebrionis*), and *israelensis* have no microbicidal or microbiostatic activity against selected bacteria, fungi, and algae in vitro. *Canadian J. Microbiol.* 48: 262-267.
- LILJESTHRÖM, G.; E. MINERVINO; D. CASTRO & A. GONZÁLEZ (2002). La comunidad de arañas del cultivo de soja en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Neotrop. Entomol.* 31: 197-210.
- LOSEY, J. E.; L. S. RAYNOR & M. E. CARTER (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- LÖVEI, G. L. & K. D. SUNDERLAND (1996). Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Ann. Rev. Entomol.* 41:231-256.
- LÖVEI, G.; SUNDERLAND, K. (1996). Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera:Carabidae). *Annual Review of Entomology*, v.41, p.231-256, 1996.
- LOZZIA, G. C. (1999). Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in *Bt* corn and its effects on non target insects. *Bolletino di Zoolía Agraria e Bachicoltura (Ser. II)*31: 37-58.
- MAELFAIT, J.P., R. JOCQUE, L. BAERT & K. DESENDER (1990). Heathland management y spiders. *Acta Zool. Fennica* 190: 261–166.
- MANACHINI, B.; M. AGOSTI & I. RIGAMONTI (1999). Environmental impact of *Bt*-corn on non “target” entomofauna: synthesis of field and laboratory studies. Human and environmental exposure to xenobiotics. *Proceedings of the XI Symposium Pesticide Chemistry*. Cremona, Italia. 873-882.
- MARGARIT, E.; M. I. REGGIARDO; R. H. VALLEJOS & H. R. PERMINGEAT (2006). Detection of *Bt* transgenic maize in foodstuff. *Food Research International* 39: 250-255.
- MARTÍNEZ, A. T.; F. J. RUIZ-DUEÑAS; M. J. MARTÍNEZ; J. C. RIO & A. GUTIÉRREZ (2009). Enzymatic delignification of plant cell wall: from nature to mill. *Current Opinion in Biotechnology* 20 (3): 348-357.

- MARTÍNEZ, C. 2005. Introducción a los escarabajos Carabidae (Coleoptera) de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá D.C., Colombia. 546 p.
- MINERVINO, E. (1996). Estudio biológico y ecobiológico de arañas depredadoras de plagas de soja. Tesis de Ph.D., Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- OLIVER, I. & A. J. BEATTIE (1996). Invertebrate morphospecies as surrogates for species: a case study. *Conservation Biology* 10: 99-109.
- ORR, D. B. & D. A. LANDIS (1997). Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. Econ. Entomol.* 90: 905-909.
- PEARCE, J. L. & L. A. VENIER (2006). The use of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) and spiders (Araneae) as bioindicators of sustainable forest management: A review. *Ecological Indicators* 6: 780-793.
- PILCHER, C. D.; J. J. OBRYCKI; M. E. RICE & L. C. LEWIS (1997). Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* 26: 446-454.
- PINKUS-RENDÓN, M.A., J.L. LEÓN-CORTÉS & G. IBARRA- NÚÑEZ. (2006). Spider diversity in a tropical habitat gradient in Chiapas, Mexico. *Diversity Distrib.* 12: 61-69.
- PURTAUF, T. (2005). Landscape context of organic and conventional farms: Influences on carabid beetle diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.108, n.2, p.165-174.
- ROOT, R. B. (1967). The niche exploitation pattern of the blue-grey gnatcatcher. *Ecology Monography* 37: 317-350.
- RUSHTON, S. P. & M. D. EYRE (1992). Grassland spider habitats in north-east England. *J. Biogeography* 19: 99-108.
- SABOGAL, A. & J. PINZON (2001). Estudio del ciclo de vida y hábitos alimenticios de la araña *Alpaida variabilis* Keyserlin (Araneidae) en la Sabana de Bogotá.

Trabajo de grado. Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia.
120 p.

SAXENA, D. & G. STOTZKY (2000). Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic *Bt* corn in vivo and in situ. FEMS Microbial Ecology 33: 35-39.

SAXENA, D. & G. STOTZKY (2001). *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin released from root exudates and biomass of *Bt* corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. Soil Biology and Biochemistry 33 (9): 1225-1230.

SAXENA, D. & G. STOTZKY (2002). *Bt* toxin is not taken up from soil or hydroponic culture by corn, carrot, radish, or turnip. Plant and Soil 239: 165-172.

SAXENA, D.; N. C. STEWART; I. ALTOSAAR; Q. SHU & G. STOTZKY (2004). Larvicidal Cry proteins from *Bacillus thuringiensis* are released in root exudates of transgenic *B. thuringiensis* corn, potato, and rice but not of *B. thuringiensis* canola, cotton, and tobacco. Plant Physiol. Biochemistry 42: 383-387.

SAXENA, D.; S. FLORES & G. STOTZKY (1999). Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. Nature 402: 480.

SIMS, S. R. & J. W. MARTIN (1997). Effects of the *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins *CryIA(b)*, *CryIA(c)*, *CryIIA* and *CryIIIA* on *Folsomia candida* and *Xenylla grisea* (Insecta: Collembola). Pedobiologia 41: 412-416.

STOTZKY, G. (2000). Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and bacterial DNA bound on clays and humic acids. J. Environ. Quality 29: 691-705.

TAPP, H. & G. STOTZKY (1995). Insecticidal activity of the toxins *Bacillus thuringiensis* subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* adsorbed and bound on pure and soil clays. Appl. Environ. Microbiol. 61: 786-1790.

- TSAI, Z.I., P.S. HUANG & I.M. TSO (2006). Habitat management by aboriginals promotes high spider diversity on an Asian tropical island. *Ecography* 29: 84-94.
- UETZ, G.; J. HALAJ & A. B. CADY (1999). Guild structure of spiders in Makor Crops. *J. Arachnol.* 27: 270-280.
- WALKER, W.; P. HARREMOES; J. ROTMANS; J. VAN DER SLUIJS; M. VAN ASSELT; P. JANSSEN & M. KRAYER VON KRAUSS (2003). Defining uncertainty. A conceptual basis for uncertainty management in model-based decision support. *Integrated Assessment* 4 (1): 5-17.
- WEEKS, R.D. JR. & T.O. HOLTZER (2000). Habitat y Season in Structuring Ground-Dwelling Spider (Araneae) Communities in a Shortgrass Steppe Ecosyst. *Environ. Entomol.* 29: 1164-1172.
- WHITMORE C.; R. SLOTOW; T. E. CROUCH & A. S. DIPPENAAR-SCHOEMAN (2000). Diversity of spiders (Araneae) in a savanna Reserve, Northern Province, South Africa. *J. Arachnol.* 30: 344-356.
- WILLETT, T.R. (2001). Spiders y other arthropods as indicators in old-growth versus logged redwood stands. *Restoration Ecology* 9: 410-420.
- YOUNG, O. P. & G. B. EDWARDS (1990). Spiders in United States field crops and their potential effect on crop pests. *J. Arachnol.* 18: 1-27.
- YU, C. G.; M. A. MULLINS; G. W. WARREN; M. G. KOZIEL & J. J. ESTRUCH (1997). The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein *Vip3A* lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 532-536.
- ZWAHLEN, C.; A. HILBECK; P. GUGERLI & W. NENTWIG (2003a). Degradation of the *Cry1Ab* protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Mol. Ecol.* 3: 765-775.
- ZWAHLEN, C.; A. HILBERCK; R. HOWALD & W. NENTWIG (2003b). Degradation of the *Cry1Ab* protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* com tissue in the field. *Mol. Ecol.* 12: 765-775.

ZWAHLEN, C.; W. NENTWIG; F. BIGLER & A. HILBECK (2000). Tritrophic interactions of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn, *Anaphothrips obscurus* (Thysanoptera: Thripidae), and the predator *Orius majusculus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environ. Entomol.* 29: 846-850.

CAPÍTULO 4

INCIDENCIA DE LOS MAÍCES *Bt* EN LA DIVERSIDAD DE ARTROPODOS Y EN LA APARICIÓN DE PLAGAS SECUNDARIAS

RESUMEN

El uso de los cultivos transgénicos con resistencia a insectos permite reducir la dependencia de plaguicidas convencionales. La alta especificidad de la toxina *Cry1Ab* en el maíz *Bt* se traduce en una mejor conservación de la fauna “no blanco” del control asociada al cultivo y de los enemigos naturales. Se han realizado trabajos en laboratorio que estudian el impacto de los cultivos transgénicos sobre diferentes organismos, pero son pocos los que evalúan su efecto sobre la diversidad de una comunidad de artrópodos en condiciones naturales. Para la realización de este trabajo se plantearon como objetivos comparar el impacto de los maíces *Bt* en la diversidad de artrópodos y en la aparición de plagas resurgentes en cultivos de la zona central de la provincia de Santa Fe. Se realizaron monitoreos semanales a campo durante cinco campañas agrícolas: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010. Para ello, se sembraron en parcelas de una hectárea cada una, los híbridos *Bt* (AX 886 MG) que expresa la toxina *Cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* Berlinery el híbrido convencional (892CL), en ambos la distancia entre surcos fue de 0,70 m. Se utilizaron tres métodos de muestreos, trampas amarillas pegajosas, recuentos visuales y trampas de caída. Para el análisis de la diversidad se utilizaron los siguientes índices ecológicos: Abundancia relativa, Diversidad relativa de las familias, Diversidad de especies, Índice de Dominancia, Índice de equidad de Shannon (E_H), Índice de Bray y Curtis. Para comparar la abundancia de artrópodos en los distintos años de muestreos, se realizó un ANOVA para medidas repetidas en el tiempo. No se observó efectos de la presencia de maíces con genotipo *Bt* sobre la diversidad, como así tampoco entre las comunidades de artrópodos, según los índices ecológicos analizados. Especies como *Euxesta* sp. y *Diabrotica speciosa*, consideradas hasta el momento plagas secundarias, tuvieron una abundancia elevada, siendo superior en los maíces transgénicos. Existieron diferencias significativas cuando comparando las poblaciones durante los cinco años de muestreos,

en las campañas agrícolas 2005-2006 y 2008-2009, pero las misma no se debieron al tipo de maíz sino a las condiciones climáticas (ver Capítulo 1).

INTRODUCCIÓN

La preocupación de muchos investigadores por el uso de los cultivos transgénicos, se debe a que no siempre se puede predecir el impacto que posiblemente posean sobre las interacciones entre los organismos presentes en los ambientes cultivados y, además se desconoce se probable efecto sobre los diferentes niveles tróficos, que no son el objetivo de control para el cual fueron creados (Romeis *et al.*, 2006; Icoz & Stotzky, 2008; Perry *et al.*, 2010).

El uso continuo y el aumento de la superficie sembrada con las plantas genéticamente modificadas (PGM) podrían ocasionar la desaparición de las especies fitófagas “blanco” del control. De este modo, los organismos presentes, pero que hasta ese momento no causaban daños al cultivo, podrían convertirse en plagas (inducción de plagas secundarias), motivadas por la disminución de la competencia, la posibilidad de colonizar las plantas o incrementar el uso de los recursos o por la menor cantidad de enemigos naturales (Strong *et al.*, 1984; Bernays & Chapman, 1994; Champan1931).

El riesgo de exposición de los organismos que habitan la flora circundante a las PGM aumenta por el consumo accidental de los granos de polen depositados sobre las plantas hospederas. La preocupación sobre este grupo de herbívoros surgió a partir de una comunicación de Losey *et al.* (1999), en la que dio cuenta de una disminución significativa en las tasas de alimentación, crecimiento y un aumento en la mortalidad de las orugas de *Danaus plexippus* L., conocida como “monarca”, al ser alimentadas con hojas de *Aclepias curassavica* L., cubiertas de polen de maíz Bt.

En el caso de las especies fitófagas, que se alimentan de los jugos de las plantas o del néctar, el riesgo de intoxicación no es significativo, debido a las bajas concentraciones de las toxinas *Cry* en estos sectores de la planta. No obstante, podrían verse afectados indirectamente a través de los cambios en las poblaciones de insectos susceptibles (Raps *et al.*, 2001a).

La obtención de genotipos Bt en los cultivos tuvieron como objetivo la disminución de los daños de herbivoría de plagas pertenecientes a los Órdenes

Lepidoptera, Coleoptera y Diptera pero, en los agroecosistemas, se encuentran otros artrópodos herbívoros que en el caso del cultivo de maíz pueden ingerir tejidos y así incorporar la proteína *Cry* al consumir partes de la planta, pudiendo quedar expuestos a la toxina (Groot & Dicke, 2002). Harwood *et al.* (2005) indican que, en condiciones de campo, existe exposición prolongada de los artrópodos a la toxina, hecho que debería ser considerado como un riesgo de las plantas transgénicas a los herbívoros “no blanco”.

OBJETIVOS

Determinar la incidencia de los maíces *Bt* en la diversidad de artrópodos plagas y en la incidencia de plagas secundarias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron monitoreos a campo mediante trampas pegajosas, conteos visuales y trampas de caída.

Los muestreos a campo se realizaron durante cinco campañas agrícolas consecutivas los que estuvieron comprendidos entre los años: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010 en una misma explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (31° 30' S 60° 55' W) en la localidad de Pujato Norte, departamento Las Colonias (Santa Fe).

Anualmente se sembraron 2 parcelas de 1 ha, con una distancia entre ambas de 15m. Una de las parcelas se sembró con un híbrido de maíz *Bt* (AX 886 MG) que expresa la toxina *Cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* Berlinery otra con un híbrido convencional(892CL), ambos del criadero Nidera.Las siembras se realizaron con una distancia entre surcos de 0,70 m. Las fechas en que se realizaron las siembras en cada campaña agrícola se detallan en el Cuadro 1.1. En ambos lotes anualmente se realizaron tratamientos con herbicidas de pre-siembra (Atrazina y Glifosato) y post emergencia (Iodosulfuron + Foramsulfuron y Sulfonilureas).

Cuadro 4.1: Fechas de siembra de los maíces *Bt* y no *Bt*, en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.

Campaña	Fecha de siembra
2005-2006	14 de octubre
2006-2007	29 de septiembre
2007-2008	25 de septiembre
2008-2009	20 de septiembre
2009-2010	15 de octubre

Recuento de artrópodos

1- Recuento visual

Teniendo en cuenta las características del cultivo se estimó que la mejor forma de llevar a cabo este estudio era mediante conteo directo de los artrópodos sobre la planta (Castañera *et al.*, 2004). El recuento visual es un método de muestreo absoluto mediante el cual se logra identificar y cuantificar la fauna existente sobre la planta. Se determinaron dos tratamientos (no *Bt* y *Bt*), mediante sorteo se estipuló la planta de inicio de los recuentos en cada lote, a partir del cual se muestrearon 15 plantas consecutivas en el surco. La unidad de muestreo era la planta completa. De cada planta se examinaron detalladamente las hojas, el tallo y, en la etapa reproductiva, la inflorescencia panoja y la mazorca. Con la finalidad de evitar el efecto de la vegetación presente de los bordes, los sorteos se iniciaron dejando 10 m en cada margen del lote. Los muestreos se realizaron con frecuencia semanal desde la siembra hasta la cosecha del cultivo.

Se llevaron registros de los artrópodos presentes, y de su estado de desarrollo (huevo, ninfa o larva, pupa y adulto), tanto los fitófagos como los enemigos naturales. Siempre que fue posible los ejemplares adultos fueron identificados a campo, caso contrario fueron colocados, individualmente, en frascos con alcohol 70%, debidamente rotulados, para su posterior identificación en el laboratorio.

2- Trampas pegajosas

Las trampas pegajosas se emplearon con la finalidad de atrapar insectos alados de difícil observación y captura mediante el método visual. Las mismas consistieron en cartones de color amarillo con pegamento (marca comercial Subin), de 15 cm de ancho por 25 cm de largo. Las trampas se colocaron a partir de la sexta hoja del maíz, colgadas sobre el estrato vegetal, de esta manera se mantuvieron siempre ubicadas en el tercio superior de la planta. En cada lote se colocaron cuatro trampas equidistantes (Manachini *et al.*, 1999), las que semanalmente fueron reemplazadas y llevadas a laboratorio para la identificación de los artrópodos capturados.

3-Trampas de caída (“pitfall”)

Para determinar el efecto de los maíces transgénicos y convencionales, en la población de artrópodos terrestres, se utilizaron trampas de caída (“pitfall”). Las mismas consistieron en recipientes de plástico de 10 cm de alto, 6 cm de diámetro inferior y 7,5 cm de diámetro superior, los que fueron enterrados, quedando su parte superior al ras del suelo y se llenaron una solución de ácido acético al 6%, el que fue semanalmente renovado, con el fin de facilitar la conservación de los artrópodos. Hasta el momento estas trampas son el método mejor conocido y más ampliamente utilizado en el estudio de poblaciones de artrópodos del suelo en los ecosistemas agrícolas (Duelli *et al.*, 1999).

En cada lote, se colocaron 4 trampas equidistantes (Manachini *et al.*, 1999) con una frecuencia semanal las capturas se introdujeron en frascos, debidamente etiquetados y se llevaron al laboratorio de la cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agrarias (Esperanza), donde fueron conservados en recipientes Eppendorf® (1,5 mm) con alcohol 70°, para su posterior identificación.

A partir de las identificaciones de los distintos taxones provenientes de los muestreos, se confeccionaron tablas de abundancia relativa de las especies, agrupadas en los taxones Orden y Familia. Por un lado, se calcularon índices de diversidad alfa, que hace referencia a la diversidad local dentro de una comunidad y por otro la diversidad Beta, la cual representa el cambio en la diversidad entre dos o más comunidades. Se estimaron los siguientes índices ecológicos (Martínez *et al.*, 2009; Armendano & González, 2010), para la diversidad Alfa: 1) Índice de Abundancia

Relativa, 2) Diversidad Relativa de las Familias, 3) Diversidad de Especies, 4) Índice de Equidad de Shannon, y 5) Índice de Dominancia y, para la diversidad Beta, se calculó el Índice de Bray & Curtis.

1-Abundancia relativa

Representa el porcentaje de una especie sobre el total, incluyendo a todas las especies o familias observadas.

2-Diversidad relativa de las familias

Para la obtención del índice de diversidad de familias se vincula el número de especies encontradas que integran una familia (n_i) con el número total de especies (N) encontradas. Para cada uno de los híbridos de maíz utilizados, para determinar el número total de especies (N) se realizó la sumatoria de todas las especies de cada familia observada en cada lote según la ecuación 1.

Índice de diversidad: $divR = (n_i/N) * 100$ (Ecuación 1)

Donde:

$divR$ = Diversidad relativa de la familia

n_i = Numero de especies de una familia

N = Sumatoria de todas las especies de la muestra

La diversidad de la familia expresa la relación porcentual entre el número de especies que integran una determinada familia y el número de todas las especies de la muestra, de este modo se obtuvo el porcentaje de diversidad para cada familia respecto al 100% de la población.

3-Diversidad de especies

Se aplicó el índice de Shannon-Wiener (H'), uno de los índices más utilizados en ecología (Ludwig & Reynolds, 1989), utilizado para caracterizar la diversidad de especies en cada híbrido (Bt y no Bt), el que se estima según la siguiente ecuación:

Shannon-Weiner $H' = -\sum p_i \ln p_i$ (Ecuación 2)

Donde

p_i = proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i : ($p_i = n_i/N$))

n_i = número de individuos de la especie i

N = número total de individuos de todas las especies ($\sum n_i$)

4- Índice de equidad de Shannon (E_H)

El índice de equidad Shannon se basa en la probabilidad de encontrar un determinado individuo en un ecosistema. El índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (abundancia) (Magurran, 2001).

Este índice indica que tan uniformemente están distribuidos los individuos entre las especies (Clements & Newman, 2002; Newman & Unger, 2003), dicho de otro modo, compara la diversidad observada en una comunidad con la diversidad máxima posible de una comunidad hipotética, con el mismo número de especies.

$$E_H = \frac{H'}{\ln S} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde: S es el número de especies (riqueza) y H' el índice de diversidad de Shannon. (ver ecuación 2)

Puede demostrarse que, cuando $p_i = 1/S$ para toda p_i , se alcanza la uniformidad máxima, siendo p_i la proporción del número de individuos de la especie i con respecto al total (n_i/N) (Franco *et al.*, 1989). Asume valores entre 0 y 1, en donde cuanto más cercano a 1 es el valor, mayor es la uniformidad.

5- Índice de Dominancia

Para determinar la dominancia de una especie se utilizó el índice de Simpson, que toma un determinado número de especies presentes en el hábitat y su abundancia relativa (Pielou, 1969).

A medida que el índice se incrementa, la diversidad decrece. Este índice sobrevalora las especies más abundantes en detrimento de la riqueza total de especies, por lo tanto cuando mas aumenta el valor a uno, la diversidad disminuye (Pielou, 1969). Se calcula con la siguiente fórmula:

$$\lambda = \sum p_i^2 \text{ (Ecuación 4)}$$

Donde, λ : dominancia y p_i es la proporción del número de individuos de la especie i con respecto a N .

Además se determinó la similitud entre ambas comunidades estudiadas, midiendo la diferencia entre la abundancia de cada especie presente, para ello se utilizó:

Diversidad Beta: es el grado de cambio en la diversidad de especies entre hábitats. El sistema más fácil para medir la diversidad β entre pares de localidades es mediante el uso de los coeficientes de similitud.

1-Índice de Bray & Curtis: Mide la similitud cuantitativa entre dos comunidades, toma valores iguales a 1 en casos de similitud completa, e igual a 0 si las comunidades son disímiles y no tienen especies en común, se calcula mediante la siguiente expresión matemática:

$$I_{BC} = 1 - \frac{\sum |x_i - y_i|}{\sum (x_i + y_i)} \text{ (Ecuación 5)}$$

Donde x_i es la abundancia de la especie i en la comunidad una e y_i la abundancia de esa especie en la comunidad dos.

Las identificaciones de los representantes hallados se realizaron bajo lupa estereoscópica de 40x (Olympus SZ40) utilizando las claves de: Barrientos (1988); Borrór *et al.* (1989); Remaudiere & Seco Fernández (1990a, b); Rupert & Barnes (1996); Choate (2001); Choate (2003).

Para comparar la población de artrópodos en ambos maíces a los largo de los cinco años de muestreos, se realizó un ANOVA, para ello previamente se realizaron las pruebas de normalidad de los datos (Snedecor & Cochran, 1989). Para determinar diferencias entre tratamientos se realizó un test no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados. Los datos se analizaron con el programa estadístico InfoStat (versión 2011).

RESULTADOS

Durante las cinco campañas agrícolas en que se realizaron los estudios se colectaron un total de 99.745 organismos en ambos maíces, y con el empleo de los tres métodos de muestreos, de los cuales 55.228 correspondieron a los maíces no *Bt*, y 44.517 en los maíces *Bt*. De estos totales, en los híbridos convencionales el 52% fueron artrópodos plagas y en los maíces transgénicos ese porcentaje llegó a 64%. No existieron diferencias significativas entre los maíces *Bt* y no *Bt* con un $p=0,526$.

Los representantes hallados corresponden a los Phylum Arthropoda y Mollusca y dentro del primero, a las Clases Insecta, Chilopoda, Crustacea y Arachnida. La Clase insecta fue la más numerosa, en cuanto a la cantidad de ejemplares y a la diversidad de órdenes identificados correspondientes a Blattodea, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Neuroptera, Orthoptera y Thysanoptera. El orden de los cuales Coleoptera estuvo representado por la mayor cantidad de familias, seguido por Orthoptera.

Debido a la variación de los hábitos y biología de los representantes de los diferentes Phylum, se los ha recolectado empleando diferentes métodos de muestreos (Cuadro 4.2).

Los ejemplares de las Clases Mollusca, Crustacea y Chilopoda, debido a sus hábitos terrestres y a su proliferación en microambientes húmedos, ricos en materia orgánica y vegetales en descomposición, solo fueron colectados a través de trampas de caída. Dentro de los moluscos se hallaron ejemplares de la familia Limacidae (Orden Pulmonata), conocidos como “babosas” de las especies *Deroceras reticulatum* (Müller) y *D. laeve* (Müller) (Cuadro 4.2).

En cuanto a los crustáceos el único orden registrado correspondió a Isopoda, conocidos como “bicho bolitas”, con los géneros *Armadillidium vulgare* (Latreille) (Armadillididae) y *Porcellio laticarpus* (Latreille) (Porcellionidae), mientras que dentro de los quilópodos solo se recolectaron “ciempiés”, por lo que para su análisis se tomó al grupo completo. Por último, la Clase Arachnida estuvo representada por el orden Acari, cuyos recuentos se realizaron visualmente. Solo se registró la presencia de la familia Tetranychidae (Cuadro 4.2).

En la Fig. 4.2 se observa el total de individuos monitoreados en las 5 campañas agrícolas, agrupados por familia y según el tipo de maíz (transgénicos o no). Los ejemplares de los Phylum Chilopoda, Mollusca y Crustacea, de hábitos terrestres, cuyos registros en ningún caso superaron los 1.000 individuos, fueron más abundantes en los maíces no Bt.

De la Clase Insecta las familias de herbívoros más abundantes fueron Thripidae y Aphididae (Fig. 4.1). Los trips fueron un 9% superior en el cultivar convencional, superando los 4.000 individuos recolectados, en ambos híbridos. Scarabaeidae y Otitidae, también con representantes de hábitos fitófagos, fueron más abundantes en el maíz transgénico, siendo los recuentos de la última superior en 2.112 individuos (46%) en los maíces Bt.

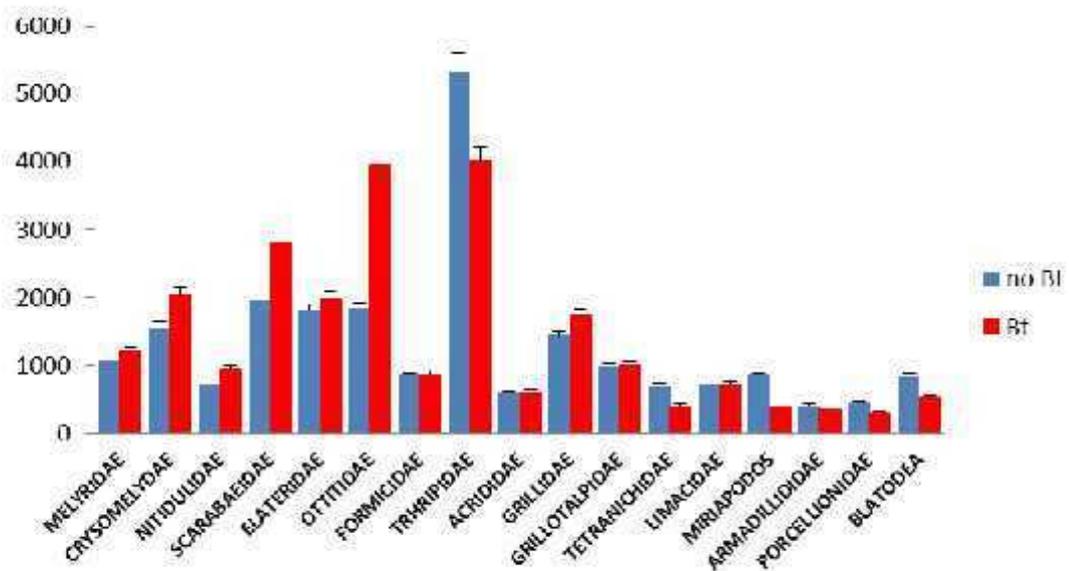


Figura 4.1: Total de los individuos recolectados (\pm EE), por familia, durante las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010.

Si analizamos la abundancia relativa de las distintas familias según el método de muestreo empleado, sin discriminar según el genotipo de maíz, puede observarse que; en las trampas pegajosas las familias de insectos fitófagos con mayor abundancia relativa fueron Otitidae, Thripidae, Chrysomelidae, Acrididae y Melyridae (Fig. 4.2).

Cuadro 4.2: Artrópodos herbívoros, agrupados por orden y familia, según tipo de monitoreo: visual, trampas amarillas y trampas de caída.

Grupo de Artrópodos	Familia	Tipo de monitoreo		
		Visual	Trampas amarillas	Trampas de caída
Orden	Familia			
Coleoptera	Chrysomelidae	x	x	
	Melyridae	x	x	
	Scarabaeidae			x
	Elateridae			x
	Nitidulidae	x		
Diptera	Otitidae	x	x	
Thysanoptera	Thripidae	x	x	
Orthoptera	Acrididae	x	x	
	Grillidae			x
	Grillotalpidae			x
Hymenoptera	Formicidae			x
Acariforme	Tetranychidae	x		
Pulmonata	Limacidae	x		
Miriapoda				x
Isopoda	Armadillididae			x
	Porcellionidae			x
Blatodea				x

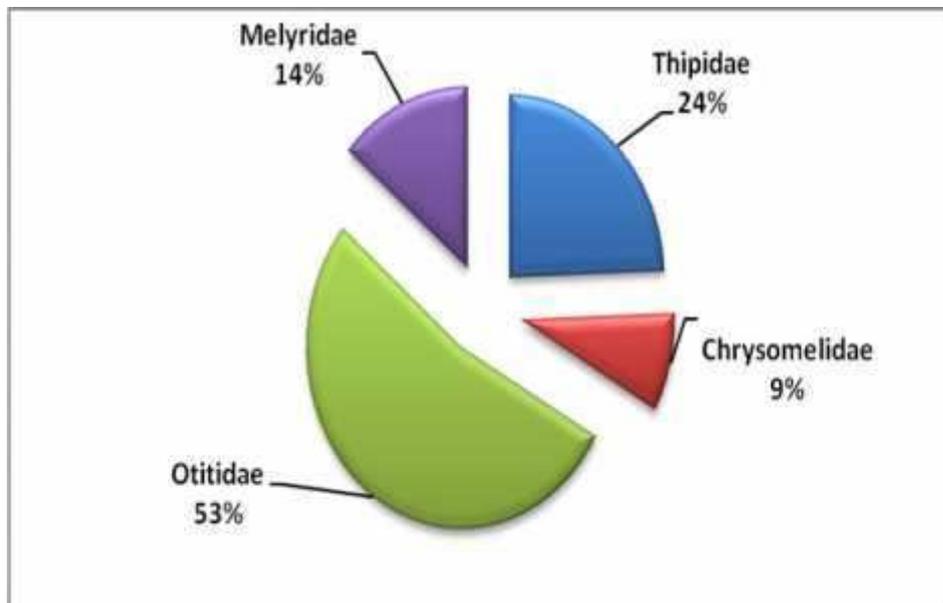


Figura 4.2: Distribución proporcional de la abundancia relativa de las familias de insectos fitófagos capturadas con trampas pegajosas.

En los conteos visuales se destaca la diferencia en la abundancia de los trips en relación a las otras familias de insectos plaga, destacándose también la familia Chrysomelidae (Fig. 4.3).

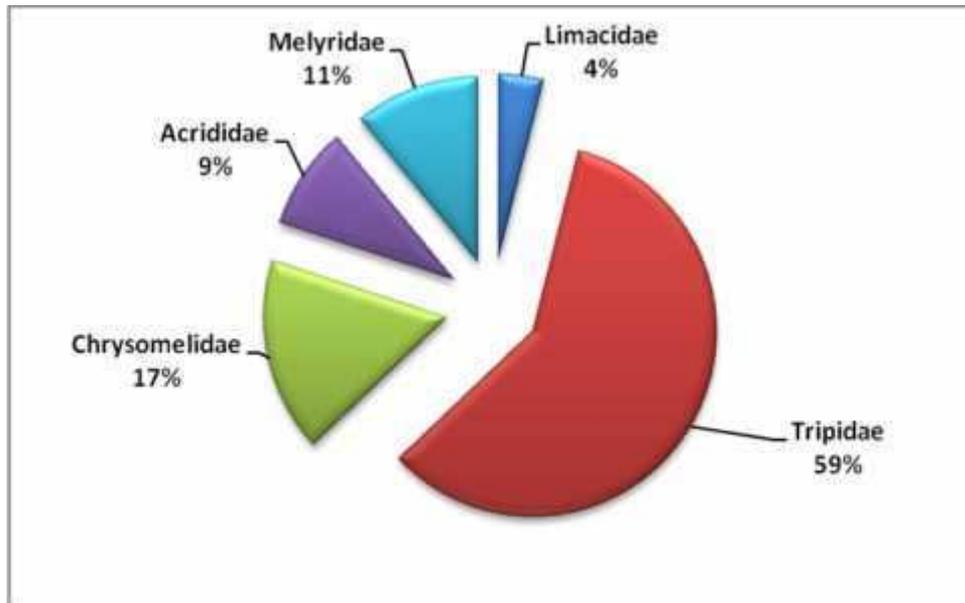


Figura 4.3: Distribución proporcional de la abundancia relativa de insectos fitófagos capturados según el método de conteo visual.

Las principales familias en las que se recolectaron representantes mediante las trampas de caída fueron Gryllidae, Scarabaeidae y Elateridae, con el 61% del total de los recuentos de los artrópodos plagas, considerando dentro de ellos a los representantes fitófagos de Miriapoda e Isopoda (Fig. 4.4).

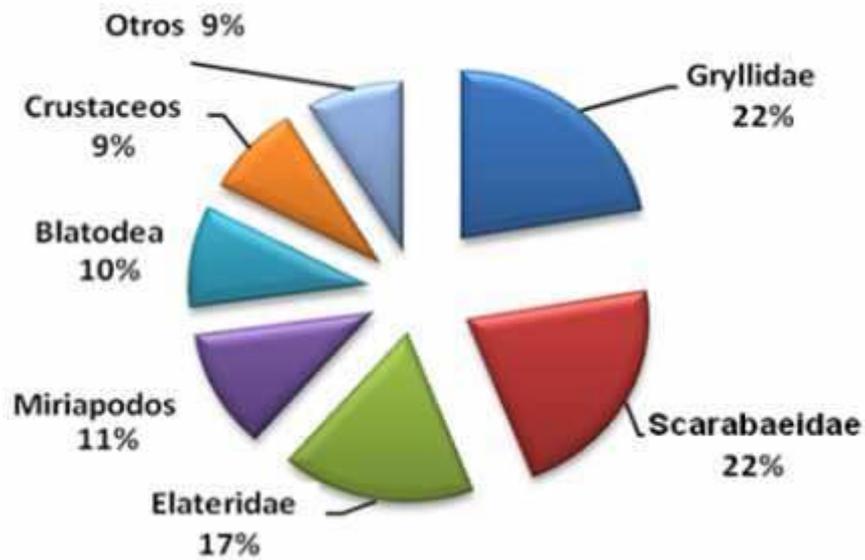


Figura 4.4: Distribución porcentual de la abundancia relativa de familias de artrópodos fitófagos capturados en trampas de caída.

Al analizar la diversidad de especies, se identificaron 25 especies pertenecientes a 20 familias diferentes (Cuadro 4.2). Dentro de los artrópodos fitófagos los trips fueron los más abundantes. De éstos se identificó al género *Frankliniella* sp., cuyo índice de abundancia relativa fue alto, superior a 9, pero similar en ambos cultivos analizados. La cantidad de ejemplares del género *Euxesta* spp. (Otitidae) fue alto en ambos cultivos, existiendo diferencias significativas entre los dos híbridos, siendo superior la cantidad en los maíces *Bt* (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.3: Abundancia y abundancia relativa de las especies de los principales artrópodos fitófagos, agrupados por familia, en los maíces no *Bt* y *Bt*.

Familia	Especies	Abundancia no <i>Bt</i>	Abundancia relativa no <i>Bt</i>	Abundancia <i>Bt</i>	Abundancia relativa <i>Bt</i>
Melyridae	<i>Astylus atromaculatus</i> (Blanchard)	1081	4,9	1200	5,2
Chrysomelidae	<i>Diabrotica speciosa</i> (Germ.)	1560	7,1	2042	8,9
Nitidulidae	<i>Lobiopa insulares</i> (Castelnau)	734	3,3	954	4,1
Scarabaeidae	<i>Diloboderus abderus</i> (Sturm)	857	3,9	1026	4,7
	<i>Cyclocephala</i> sp.	568	2,5	832	3,7
Elateridae	<i>Conoderus</i> sp.	1806	8,2	1989	9,0
Otitidae	<i>Euxesta</i> spp.	1839	8,4	3951	18,0
Formicidae	<i>Atta sexdens</i>	854	3,9	874	3,9
Thripidae	<i>Frankliniella</i> sp.	5332	24,3	4019	18,3
Acrididae	<i>Dichroplus</i> sp.	588	2,8	607	2,7
Gryllidae	<i>Gryllus argentinus</i> Saussure	1735	7,9	1742	7,9
Gryllotalpidae	<i>Scapteriscus borellii</i> Giglio-Tos	987	4,5	1002	4,5
Tetranychidae	<i>Tetranychus</i> sp.	700	3,1	408	1,8
Limacidae	sd.	730	3,2	721	3,2
Miriapoda	sd.	855	3,9	372	1,6
Armadillididae	<i>Armadillidium vulgare</i> Latreille	413	1,8	338	1,4
Porcellionidae	<i>Porcellio laveis</i> (Latreille)	451	2,0	313	1,1
Blatodea	sd.	841	3,8	531	2,4
TOTAL		21.931	100 %	22.921	100%

Referencias: sd= sin identificar.

Pero en el maíz transgénico duplicó al híbrido no *Bt*, siendo el índice de abundancia relativa aproximadamente 2,5 veces superior. Algo similar sucedió con la especie de la familia Chrysomelidae (*D. speciosa*), y las especies de la familia Scarabaeidae (*D. abderus* y *Cyclocephala* spp.), cuyos índices de abundancia relativa en el maíz con genotipo *Bt* superaron en casi el doble a los registrados en los maíces no *Bt*, lo que indicaría el resurgimiento de estas especies de plagas secundarias (Cuadro 4.4).

Otras familias de fitófagos fueron más abundantes en el híbrido *Bt*, tal es el caso de Formicidae, Gryllidae y Gryllotalpidae, también los moluscos y crustáceos, aunque las diferencias no fueron significativas (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4: Abundancia media (\pm DE), de los cinco años de muestreos de las familias de plagas recolectadas con todos los métodos de muestreos.

	Media	<i>Bt</i>	Media no <i>Bt</i>
ACRIDIDAE	121,4	$\pm 24,06$ a	117,6 $\pm 21,66$ a
BLATODEA	168,2	$\pm 64,92$ a	106,2 $\pm 30,24$ a
CHRYSOMELIDAE	408,4	$\pm 196,06$ a	312 ± 103 a
ELATERIDAE	397,8	$\pm 99,61$ a	361,2 $\pm 191,71$ a
FORFICULIDAE	160	$\pm 66,37$ a	146 $\pm 55,1$ a
FORMICIDAE	174,8	$\pm 75,05$ a	170,8 $\pm 72,44$ a
GRILLIDAE	348,4	$\pm 87,81$ a	288,6 $\pm 149,03$ a
GRILLOTALPIDAE	200,4	$\pm 52,59$ a	197,4 $\pm 83,73$ a
ISOPODA	130	$\pm 30,68$ a	173,4 $\pm 71,7$ a
LIMACIDAE	144,2	$\pm 44,25$ a	140 $\pm 24,52$ a
MELYRIDAE	240	$\pm 138,28$ a	216,2 $\pm 59,65$ a
MIRIAPODA	74,4	$\pm 23,19$ a	173 $\pm 62,38$ a
NITIDULIDAE	190,8	$\pm 96,93$ a	146,8 $\pm 41,69$ a
OTTITIDAE	790,2	$\pm 273,25$ a	367,8 $\pm 195,37$ b
SCARABAEIDAE	563,4	$\pm 167,61$ a	396 $\pm 126,15$ a
TETRANYCHIDAE	81,6	$\pm 23,66$ a	140 $\pm 54,54$ a
THRIPIDAE	803,8	$\pm 160,81$ a	1066,4 $\pm 211,9$ a

Medias con letras iguales en las filas no son significativamente diferentes, no paramétrico de Mann-Whitney para datos apareados.

Diversidad de especies de Shannon-Weiner

La diversidad en ambos cultivos (*Bt* y no *Bt*) evaluada con el índice de diversidad de Shannon-Weiner son descritos en el Cuadro 4.3. Éste índice permite conocer no sólo el número de especies, sino también como la abundancia de una especie se distribuye entre todas aquellas que conforman una comunidad. En este caso los valores fueron similares para ambas comunidades y al superar el valor de tres se deduce en ambos genotipos pueden considerarse diversos y que esa diversidad es similar.

Cuadro 4.5: Abundancia, Riqueza específica (*S*), Índice de diversidad (H') e índice de equidad (E_H') de Shannon- Wiener en los maíces *Bt* y no *Bt*.

Cultivo	Abundancia	<i>S</i>	H'	E_H'
Maíz no <i>Bt</i>	28871	25	3,503375	0,92
Maíz <i>Bt</i>	28899	25	3,600503	0,93

Índice de equidad de Shannon (E_H')

Los resultados de equidad de Shannon, que mide la abundancia relativa de las especies que conforman la riqueza de un área, llega al valor máximo ($E_H'=1$) cuando todas las especies tienen un tamaño poblacional igual. En nuestro estudio, los valores fueron elevados en los dos híbridos (Cuadro 4.3).

Índice de Dominancia

En base al cálculo del índice de Dominancia se tomaron en cuenta para el análisis, solo las 6 especies plagas más abundantes de cada híbrido de maíz. Se destaca la especie *Frankliniella* spp., le siguen en importancia *Euxesta* spp., esta especie tuvo una marcada dominancia en el genotipo *Bt* y, siendo en menor medida para *D. speciosa* y *G. argentinus*.

De acuerdo al índice de Simpson entre más se acerque el valor a 1, la diversidad disminuye, por tanto tomando este concepto, los maíces presentan una alta diversidad de especies ya que el valor máximo de dominancia obtenido para la especie más abundante no superó los valores 0,0092 y de 0,0084, en los maíces no *Bt* y *Bt* respectivamente (Fig. 4.5). Estos valores al ser muy inferiores a 1 indicarían que ambos híbridos tuvieron una buena diversidad de especies (Fig. 4.5).

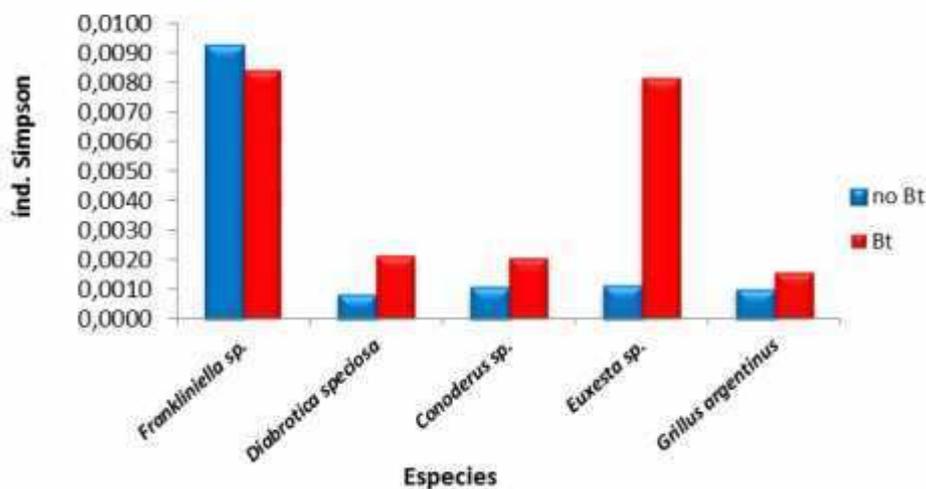


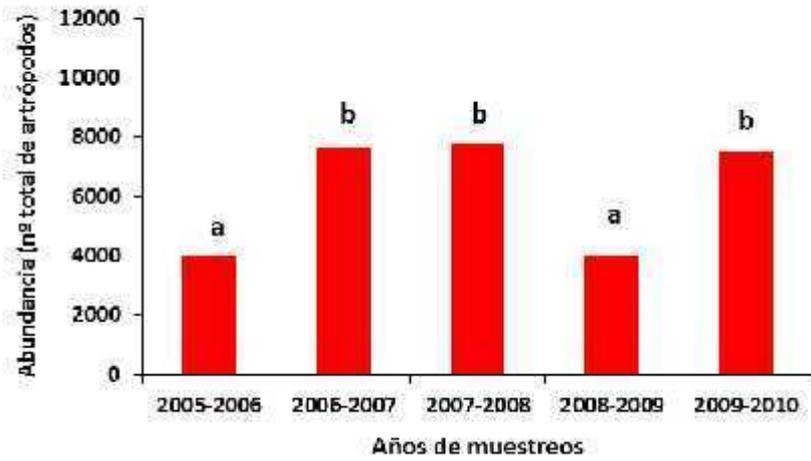
Figura 4.5: Magnitudes calculadas del Índice de Dominancia de Simpson para las principales especies presentes en los maíces *Bt* y no *Bt*.

Diversidad Beta

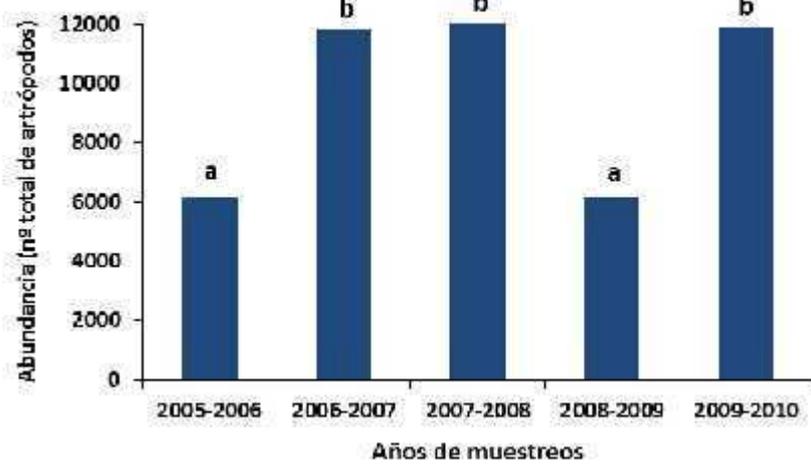
1-Índice de Bray & Curtis:

El cálculo del índice de Bray & Curtis el cual arrojó un resultado de 0,86 al acercarse al valor de 1 nos estaría indicando un alto grado de similitud entre ambas comunidades, sin embargo el valor obtenido mostraría que existen algunas diferencias cualitativas entre las dos comunidades.

En las campañas 2006-2007; 2007-2008 y 2009-2012, la cantidad de organismos, estuvo próxima a los 11.000 individuos en el híbrido transgénico, en tanto que en los maíces convencionales la cantidad recolectada fue de aproximadamente 8.000. En las campañas agrícolas 2005-2006 y 2008-2009, las poblaciones no superaron en promedio los 4.000 individuos, siendo superior en los híbridos *Bt*, pudiendo haber influido las condiciones climáticas de estas dos campañas agrícolas (Capítulo 1). Mediante el análisis de la varianza pudo observarse la existencia de diferencias significativas entre estas dos campañas con respecto a las restantes, coincidiendo con los años en que las condiciones de pluviometría estuvieron muy por debajo de la media zonal anual, en que la abundancia de artrópodos fue, en promedio, 41,5% y 38,0% menor para los maíces *Bt* y convencionales, respectivamente (Fig. 4.6 A y B).



A



B

Figura 4.6: Abundancia de artrópodos recolectados durante los cinco años de muestreos, en los maíces no Bt (A) y Bt (B).

Letras distintas indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0,05$)

DISCUSIÓN

A pesar de que varios estudios han evaluado el efecto de las PGM en los organismos que no son los objetos del control, pocos han evaluado el efecto sobre la diversidad biológica en la comunidad de artrópodos (Dickson & Whitham, 1996).

Como se observa en este y otros estudios (Jasinski *et al.*, 2003; Musser & Shelton, 2003; Candolfi *et al.*, 2004), la diversidad no fue afectada por los maíces *Bt*, aunque si se observo algunos cambios en la abundancia de las distintas familias.

Los principales artrópodos que pueden considerarse potencialmente plagas encontrados en este estudio fueron los trips, con una abundancia elevada respecto a otras plagas; los mismos no mostraron diferencias entre los maíces *Bt* y no *Bt*. Para el caso de los trips, no existen estudios realizados. Estas especies por su forma de alimentación (Igarzabal *et al.*, 2009), pueden compararse con los resultados encontrados para los ácaros de la familia Tetranychidae (Dutto *et al.*, 2002). En este caso se comprobó que ingieren grandes cantidades de la toxina al alimentarse de las plantas *Bt*, ya que lo hacen de las células del parénquima, aunque no pudo determinarse que sean afectados por la toxina (Dutton *et al.*, 2002).

Se pudo observar la presencia de *Euxesta* spp., con una mayor abundancia en el maíz *Bt*, que debe ser tomada en cuenta ya que esta especie es plaga importante del maíz en otros países del mundo (Reis *et al.*, 1980; Frías, 1981; Cruz *et al.*, 2011). Los daños de *Euxesta* spp., incluyen el consumo de estigmas, y por lo tanto fallas en la polinización, con falta de granos, destrucción de los mismos en desarrollo, aumento de la vulnerabilidad a pudrición de la mazorca y disminución en la calidad del grano (Reis *et al.*, 1980, Branco *et al.*, 1994). También *D. speciosa*, plaga que, hasta ahora es considerada secundaria en nuestro país pero de importancia en los EE. UU., se presentó con una mayor abundancia en los maíces *Bt* (Marquardt *et al.*, 2009). Estos dos casos podrían indicar una resurgencia de estas plagas secundarias, como consecuencia de la presencia de un cultivo de maíz con genotipo *Bt*.

Por lo mencionado, es necesaria la realización de otros estudios, con el fin de determinar el efecto que el uso continuo que estos cultivos transgénicos pueden tener sobre las poblaciones de artrópodos fitófagos.

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias en los índices de diversidad de artrópodos fitófagos, presentándose las mismas especies, en los dos tipos de cultivos evaluados.

La familia Otitidae, con la especie *Euxesta* sp., presentó una mayor abundancia en el maíz *Bt*, posiblemente debido a la disminución del uso de plaguicidas, para el control de plagas objetivo del control y también podría deberse a la menor abundancia de enemigos naturales.

Las especies plaga del orden Coleoptera fueron más abundantes en los maíces *Bt*, *D. speciosa*, presentó una abundancia superior en los maíces *Bt*, lo cual debería tenerse en cuenta debido a la importancia de la misma como plaga clave del maíz en otros países del mundo. Las especies *D. abderus* y *Cyclocephala* sp., también fueron más abundantes en el genotipo *Bt*.

No existieron diferencias en la abundancia total de artrópodos entre las diferentes campañas agrícolas.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMENDANO, A. & A. GONZÁLEZ (2010). Comunidad de arañas (Arachnida, Araneae) del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en Buenos Aires, Argentina. *Rev. Biol. Trop* 58: 747-757.
- BERNAYS, E. A. & R. F. CHAPMAN (1994). Host-plant selection by phytophagous insects. CHAPMAN & HALL. Nueva York 312 pp.
- BORROR, D. J.; C. A. TRIPLEHORN & N. F. JOHNSON (1989). An Introduction to the Study of Insects(6th edition). Saunders College Publishing, 875 pp.
- BRANCO M.C.; G. L.VILLAS BOAS; F. J. B. REIFSCHNEIDER & I. CRUZ (1994). Avaliadao da resistencia a *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Euxesta* sp. (Diptera: Otitidae) em linhagens de milho doce. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 23: 137-140.
- CANDOLFI, M. P.; K. BROWN; C. GRIMM; B. REBER & H. SCHMIDLI (2004). A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified *Bt*-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocontrol Sci. Techn.* 14: 129-170.
- CHAPMAN, R.N. 1931. *Animal Ecology*. Me Graw-Hill Book Comp. Inc. New York and London. 464 pp.
- CRUZ, I.; R. BRAGA DA SILVA; M. CORRÊA FIGUEIREDO & A. M. PENTEADO-DIAS (2011). Laboissière del Sarto M. C. & G. S. Nuessly. Survey of ear flies (Diptera, Ulidiidae) in maize (*Zea mays* L.) and a new record of *Euxesta mazorca* Steyskal in Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*; 55(1), 102-108.
- DICKSON, L. L. & T. G. WHITHAM (1996). Genetically-based plant resistance traits affect arthropods, fungi, and birds. *Oecologia* 106: 400-406.
- DI RIENZO J. A.; M. G. BALZARINI; L. GONZÁLEZ; F. CASANOVES; M. TABLADA & C. W. ROBLEDO (2011). *InfoStat*, versión 2013, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- DUTTON, A.; H. KLEIN; J. ROMEIS & F. BIGLER (2002). Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequence for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- FRÍAS, D. L. (1981). Diferencias de microhabitats entre *Euxesta eluta* y *Euxesta annonae* (Diptera, Otitidae). *Agricultura Técnica*; 41, 89-94.
- GROOT, A. T. & M. DICKE (2002). Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant Journal* 31: 387-406.
- HARWOOD, J. D.; W. G. WALLIN & J. J. OBRYCKI (2005). Uptake of *Bt* endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. *Mol. Ecol.* 14: 2815-2823.
- IGARZABAL, D.; P. FICHETTI; M. GÁLVEZ M; M. LAGUZZI; M. LÁBAQUE & A. WEISSBEIN (2009). Reconocimiento y manejo práctico de plagas. En: GARCÍA, F.; I. CIAMPITTI & H. BAIGORRÍ (eds.). *Manual de manejo del cultivo de soja*. 1ra Edición. Buenos Aires. Ipni. p. 129-150.
- JASINSKI, J. R.; J. B. EISLEY; C. E. YOUNG; J. KOVACH & H. WILLSON (2003). Select non target arthropod abundance in transgenic and non transgenic field crops in Ohio. *Environ. Entomol.* 32: 407-413.
- LOSEY, J. E.; L. S. RAYNOR & M. E. CARTER (1999). Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- MARQUARDT, P. T. & C. H. KRUPKE (2009). Dispersal and mating of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Bt Cornfield. *Environ. Entomol.* 38: 176-182.
- MARTÍNEZ, A. T.; F. J. RUIZ-DUEÑAS; M. J. MARTÍNEZ; J. C. RIO & A. GUTIÉRREZ (2009). Enzymatic delignification of plant cell wall: from nature to mill. *Current Opinion in Biotechnology* 20 (3):348-357.
- MUSSER, F. R. & A. M. SHELTON (2003). *Bt* sweet corn and selective insecticides: impacts on pests and predators. *J. Econ. Entomol.* 96: 71-80.

- NEWMAN, M. C. & M. A. UNGER. 2003. Fundamentals of Ecotoxicology. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, 2^a ed. 458 pp.
- RAPS, A.; J. KEHR & P. GUGERLI (2001 b). Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the non-target herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of *CryIAb*. Mol Ecol. 10: 525-533.
- REIS, P. R.; J. C. CARVALHO & J. M. SANTOS (1980). Pragas do milho e seu controle. Informe Agropecuario 6:54.
- REMAUDIÈRE, G. & M. V. SECO FERNÁNDEZ (1990 a). Claves de pulgones alados de la región mediterránea. I- Introducción y claves. Universidad de León. 119 pp.
- REMAUDIÈRE, G. & M. V. SECO FERNÁNDEZ (1990b). Claves de pulgones alados de la región mediterránea. II- ilustraciones y listas alfabéticas de los taxones. Universidad de León. 205 pp.
- RUPERT, E. E. & R. D. BARNES (1996). Zoología de los invertebrados, 5ta edición, Interamericana, México D.F., p.p. 1140.
- SNEDECOR, G. & W. G. COCHRAN (1989). *Statistical Methods* (8th ed.). Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional.
- STRONG, D. R.; J. H. LAWTON & T. R. E. SOUTHWOOD (1984). Insects on Plants- Community patterns and mechanisms Blackwell Scientific Publications, Oxford.
-

CAPÍTULO 5

INFLUENCIA DE PRESAS CRIADAS EN MAÍCES *Bt* SOBRE PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE *Eriopis connexa* Germar (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

RESUMEN

Desde la liberación comercial de cultivos genéticamente modificados que expresan los genes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), existe preocupación por sus posibles impactos sobre organismos “no blanco” presentes en los agroecosistemas. La toxina *Bt* se considera muy selectiva, pero su expresión continua en los tejidos vegetales puede afectar a artrópodos que no son plagas objetivos, por ejemplo a la fauna benéfica. El objetivo fue evaluar el efecto del maíz *Bt* sobre la duración del ciclo, peso, fecundidad y fertilidad del depredador *Eriopis connexa*. El trabajo se realizó en cámara de cría bajo condiciones controladas de fotoperíodo y temperatura. Se establecieron cuatro tratamientos con dos presas: *Sipha maydis* y *Spodoptera frugiperda*, ambas criadas en maíz no *Bt* y *Bt*. Se realizaron 50 repeticiones para cada tratamiento con alimentación *ad libitum* hasta alcanzar el estado adulto. Para determinar la incidencia de los tratamientos sobre la fecundidad y la fertilidad, una vez emergidos los adultos, se separaron en parejas, según tratamientos. Continuando la alimentación *ad libitum*, durante 30 días. Se utilizó un ANOVA y contrastes ortogonales para determinar diferencias entre tratamientos. Cuando se compararon ambas presas se hallaron diferencias significativas, con mayor duración del ciclo larval, menor peso de los adultos y fecundidad con *S. frugiperda*, con respecto a *S. maydis*. Cuando *S. frugiperda* fue criada sobre maíz *Bt* la duración del ciclo fue mayor y la fecundidad fue menor que cuando se la crió con el híbrido no *Bt*, en cambio no hubo diferencias, en ninguno de los parámetros estudiados, con *S. maydis*, criado en ambos maíces.

INTRODUCCION

Descripción del problema

La productividad del maíz puede ser afectada por factores de estrés bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos, las plagas son responsables de importantes pérdidas. Entre ellas, tanto *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae), la “oruga cogollera”, como los áfidos (Hemiptera: Aphididae), son considerados como las principales plagas potenciales que afectan la producción de este cultivo, principalmente en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Viana *et al.*, 2004).

La “oruga cogollera” siempre fue considerada una plaga importante para la agricultura. A pesar de ser polífaga, presenta una marcada preferencia por las gramíneas, en especial el maíz y el sorgo (Peairs & Saunders, 1981). Debido a que forma grandes poblaciones y a que tiene una alta tasa de dispersión de adultos, se convierte en una plaga extremadamente peligrosa. Los ataques se producen con gran rapidez y solo son detectados cuando ya produjeron un daño irreparable en el cultivo (Artigas, 1994).

Los áfidos, son un grupo de fitófagos comunes en cultivos de maíz en todo el mundo (Dicke & Guthrie, 1988). *Sipha (Rungia) maydis* es una especie cuya distribución hasta el año 2002 se limitaba a Europa, Rusia y norte de África, colonizando hojas e inflorescencias de maíz, avena y trigo (Bonnemaison, 1980). A partir de ese año, fue citada por primera vez para nuestro país en las provincias de Entre Ríos, Córdoba y Mendoza (Ríos de Saluso, 2002; Delfino, 2002; Ortego *et al.*, 2002), siendo motivo de preocupación actualmente su expansión.

Dentro de los insectos útiles a la agricultura, los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) forman un ensamble de especies cuyo rol es importante en el establecimiento del control natural de insectos plaga en muchos agroecosistemas. Se caracterizan por su amplio rango de presas, si bien presentan preferencia por los áfidos, aunque se los cita también como reguladores poblacionales de cochinillas, moscas blancas, de estados juveniles de lepidópteros, coleópteros, himenópteros, dípteros y tisanópteros, (Hodek, 1973). Una de las especies más abundantes y bien adaptadas en los sistemas agrícolas de la zona centro de la provincia de Santa Fe es *Eriopsis connexa*

Germar. En la región central de Argentina, su presencia fue registrada desde los meses de octubre hasta mayo en cultivos de alfalfa y cereales (Salto *et al.*, 1990).

El maíz modificado genéticamente que produce la δ -endotoxinas (*CryIAb*) a partir de *Bacillus thuringiensis* Berliner (maíz *Bt*) es uno de los métodos más avanzados para el control de plagas, principalmente del orden Lepidoptera (plagas “target”). Sin embargo, existe preocupación por los posibles efectos sobre el medio ambiente y sobre diversos grupos de organismos que no son plagas objetivo en los agroecosistemas (Dutton *et al.*, 2003).

La toxina *CryIAb* se considera muy selectiva en su acción, por lo que se espera que los efectos sobre artrópodos que no son plagas objetivo, y estén asociados con el maíz sean mínimos. Sin embargo, su expresión continua en todos los tejidos de dicho cultivo, ocasiona una constante exposición de los artrópodos que no ocurre con el uso tradicional de *B. thuringiensis* en las formulaciones de bioinsecticida (Dutton *et al.*, 2003).

La toxina *Bt* tiene también efectos indirectos sobre la fauna benéfica debido a que al disminuir la población de herbívoros presa se reduce consecuentemente la de los depredadores. Además, según Jervis y Copland (1996), la toxina puede reducir la calidad alimenticia de los herbívoros.

Gran parte de la bibliografía disponible referida al efecto de las plantas transgénicas sobre los enemigos naturales se han realizado sobre *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) (Hilbeck *et al.*, 1998ab; Dutton *et al.*, 2003; Pilcher *et al.*, 2005) y sobre coccinélidos (Bai *et al.*, 2005; Lundgren *et al.*, 2005; Zhu *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2006a,b), con resultados dispares. En cambio no se dispone de información sobre el impacto que los cultivos transgénicos ejercen en las especies nativas de Sudamérica.

Descripción de los insectos plaga y de *Eriopsis connexa*

***Spodoptera frugiperda*: “Gusano cogollero”.**

Los huevos de *S. frugiperda* son de forma globosa, con estrías radiales, de color rosado pálido que se tornan grises a medida que se aproximan a la eclosión. Las hembras depositan los huevos durante las primeras horas de la noche, tanto en el haz

como en el envés de las hojas. Las oviposiciones se caracterizan por presentarse en grupos de 100 a 150 cubiertos por segregaciones del aparato bucal y escamas de sus alas que sirven como protección contra algunos enemigos naturales o factores ambientales adversos (Fig. 5.1). Miden de 0,45 mm de diámetro por 0,35 mm de alto (Ángulo, 2000). La eclosión se produce de 2 a 4 días cuando la temperatura se encuentra entre 22 y 30°C (Chacón Castro *et al.*, 2009).

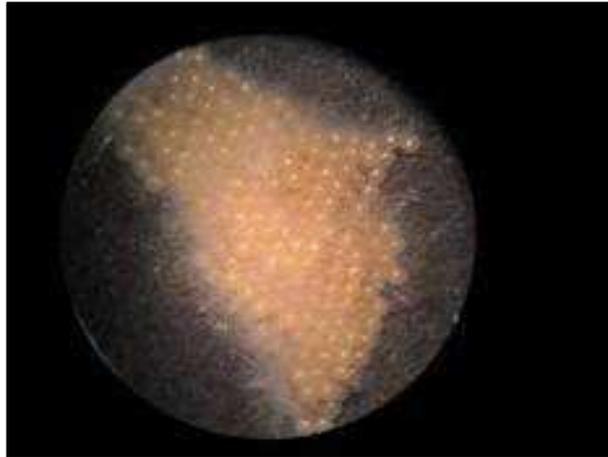


Figura 5.1: Oviposición característica de *S. frugiperda* constituida por grupos de entre 100 y 150 huevos.

Las larvas al emerger se alimentan del corion (Fig. 5.2), luego se trasladan a diferentes partes de la planta o a las vecinas, evitando así la competencia por el alimento y el canibalismo. Su color varía según el alimento, pero en general son oscuras con tres rayas pálidas estrechas y longitudinales; en el dorso, se distingue una banda negra más ancha hacia el costado y otra parecida pero amarillenta más abajo. En la frente de la cabeza se distingue una "Y" blanca invertida (Figura 5.3).



Figura 5.2: Aspecto que presentan las larvas recién nacidas de *S. frugiperda*.

Durante el desarrollo de las larvas se observan entre 6 a 7 estadios, siendo los dos primeros de mayor importancia para tomar las medidas de control. En el primero, las larvas miden hasta 2-3 mm y la cabeza es completamente negra. En el segundo estadio, las larvas miden de 4-10 mm y la cabeza es de color claro. En su último estadio pueden alcanzar hasta 35 mm. A partir del tercer estadio se introducen en el cogollo, haciendo perforaciones que son apreciadas cuando la hoja se abre (Ángulo, 2000). La duración del estado larval es entre 14 y 19 días a 24 y 28°C (Chacón Castro *et al.*, 2009).



Figura 5.3: Aspecto que presentan la cabeza de una larva de *S. frugiperda* correspondiente a los últimos estadios.



Figura 5.4: A y B) Estado de la larva al comienzo del estado de prepupa, C) Estado de pupa de *S. frugiperda*.

Las pupas son de color caoba y miden de 14 a 17 mm de longitud, con su extremo abdominal 'cremaster' terminando en 2 espinas o ganchos en forma de "U" invertida (Ángulo, 2000) (Fig. 5.4). Esta fase se desarrolla en el suelo y es la forma de

resistencia invernal. La duración de este estadio es 7 u 8 días con una temperatura entre 22 y 30°C (Chacón Castro *et al.*, 2009).

El adulto vuela durante la noche, siendo atraído por la luz, caracterizándose por tener coloración gris oscura. Las hembras tienen alas traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabescos o figuras irregulares llamativas en las alas delanteras, y las traseras son blancas (Fig.5.5). En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax. Durante el período diurno permanecen escondidas dentro de las hojarascas, entre las malezas, o en otros sitios sombreados y son activas al atardecer o durante la noche, cuando son capaces de desplazarse a varios kilómetros de distancia, especialmente cuando soplan vientos fuertes (Angulo, 2000). Su longevidad promedio es de 7 días a 25°C (Chacón Castro *et al.*, 2009).

El ciclo de vida oscila entre 19 y 48 días lo que está en correspondencia con la dependencia de la temperatura de las distintas fases, a temperaturas elevadas el ciclo se acorta (Jassic y Reines, 1974; Piedra, 1974).

Daños

A diferencia del estado adulto las larvas son activas de noche y de día, atacan a la planta de maíz actuando como cortadoras, defoliadoras o cogolleras según el momento de su desarrollo, y produciendo daños directos cuando se alimentan de los granos de la espiga (Willink *et al.*, 1993).



Figura 5.5: Adultos de *S. frugiperda*.

Esta plaga durante los dos primeros estadios larvales roe la epidermis de las hojas, dejando manchas translúcidas (Fig. 5.6 A); a partir del tercero, consumen toda la lámina foliar dejando huecos irregulares (Fig. 5.6 B) y luego migran hacia el cogollo, donde encuentran protección (Fig. 5.6 C). Por otra parte a esa edad, tienen hábitos caníbales, razón por la cual se encuentra una sola por cogollo. El mayor consumo, lo realizan en los dos últimos estadios larvales representando el 80% de la ingesta total (Alonso Álvarez, 1991; Murillo, 1991).



Figura 5.6: A) Aspecto del daño foliar producido por las larvas de primer estadio. B) Aspecto del daño foliar de larvas de tercer estadio. C) Aspecto que presentan las plantas de maíz con daño en cogollo por las larvas de *S. frugiperda*.

Otro aspecto interesante de su comportamiento es la migración a través de la superficie del suelo o por medio del viento que presentan las larvas a partir del segundo estadio, con el fin de buscar nuevas plantas.

Los adultos prefieren ovipositar en las hojas del maíz con menor daño ocasionado por larvas de su misma especie (Alonso Álvarez, 1991). A partir de una o más posturas en una planta se logra fácilmente una infestación generalizada en lotes cuando eclosionan las larvas (Murillo, 1991). Durante los primeros días de desarrollo (hasta la cuarta hoja), la planta puede ser cortada cerca del suelo y volver a crecer, aunque con un retraso considerable en relación con las otras, o bien defoliada parcial o totalmente. Cuando afecta el meristema apical, la planta puede morir (Willink *et al.*, 1993).

A partir de la sexta hoja en adelante, el daño generalmente se circunscribe al cogollo. En sus últimos estadios larvales, se alimenta de las hojas enrolladas del cogollo, donde producen perforaciones transversales, que debilitan y quiebran las hojas

perdiendo su parte distal, reduciendo en consecuencia la capacidad fotosintética de la planta.

En la última parte de esta etapa del cultivo, la larva puede causar daño en la inflorescencia masculina que se desarrolla dentro de la hoja bandera, pero su importancia es relativa ya que generalmente no se pierde toda la inflorescencia, pudiendo existir una compensación entre el polen producido por la misma o por plantas vecinas.

Una vez emergida la panoja, el gusano recurre a la espiga en desarrollo o a las hojas. El daño realizado en los estigmas reduce la polinización y produce una disminución de granos por espiga. Las larvas también se alimentan de las hojas que influyen directamente sobre el rendimiento, ya que el área foliar en la época de formación de estigmas y llenado de granos está correlacionado directamente con el rendimiento final (Alonso Álvarez, 1991).

***Sipha maydis* “pulgón negro de los cereales”.**

Las hembras ápteras miden entre 1,0 y 2,1 mm, el cuerpo es globoso, poseen coloración parda oscura a casi negro brillante, sifones tronco-cónicos y cauda semicircular (Delfino, 2002). Las antenas son cortas con 5 artejos y todo el cuerpo se encuentra cubierto por largos pelos. Las ninfas presentan los ojos rojos, cabeza y tórax oscuros y abdomen amarillo-anaranjado. Bajo lupa puede observarse que el cuerpo del pulgón está cubierto por tubérculos con pelos largos de color más claro que el cuerpo (Fig. 5.7).



Figura 5.7: Aspecto característico que presenta un adulto y ninfas de *Sipha maydis*.

Daños

Las colonias, compuestas por una o varias hembras partenogenéticas ápteras, y un número variable de ninfas, se ubican en las hojas inferiores, en la unión del tallo con la vaina de la hoja, en el envés o en ambas caras si hay alta densidad de pulgones (Imwilkelried *et al.*, 2004) (Fig. 5.8). Las hojas afectadas presentan una marcada clorosis, y unos puntos necróticos donde se alimentan los pulgones. Esta especie se menciona como transmisora del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic cucumovirus*) y del enanismo amarillo de la cebada (*Barley yellow dwarf luteovirus*) en gramíneas (El-Yamani *et al.*, 1991).



Figura 5.8: Aspecto de las colonias de *Siphonophora maydis* en plántulas de maíz.

***Eriopsis connexa*: “Vaquita depredadora de pulgones”.**

Los huevos de *E. connexa* son de color amarillo claro, translúcidos cuando se encuentran recién puestos, agrupados en plastones de 18 a 24, ordenados, pudiendo llegar a superar los 30 huevos (Fogel *et al.*, 2003). Tienen forma ovalada y se encuentran sujetos al lugar de postura por uno de sus extremos, de manera que se encuentran unos al lado de otros (Fig. 5.8). El huevo demora aproximadamente 6 días en nacer a 20°C de temperatura y 75% de humedad relativa (Montes, 1970; Etchegaray & Barrios, 1979; Etchegaray, 1982; Martos & Niemeyer, 1989).

La especie pasa por cuatro estadios larvarios (EtcheGARAY y Barrios, 1979). La larva recién emergida mide 1,5 mm de longitud y es muy delgada, de color pardo claro y semitransparente (Montes, 1970). Después de emerger y por unos dos días, permanece sobre la masa de huevos, alimentándose de huevos que aún no han eclosionado, para después dispersarse (Fig. 5.9). Son muy voraces y caníbales, dependiendo de su densidad o si el alimento es insuficiente (EtcheGARAY & Barrios, 1979; Martos & Neimeyer, 1989).

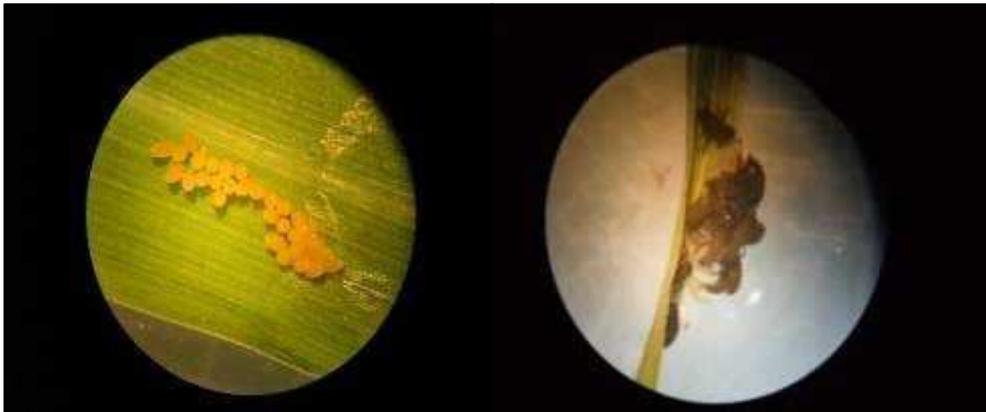


Figura 5.9: Aspecto de las oviposición y las larvas recién nacidas de *E. connexa*.

La larva de último estadio mide 7 mm de largo y 2,5 mm de ancho y es gris oscura con manchas anaranjado claras en distintas partes de cuerpo (Montes, 1970) (Fig. 5.10).



Figura 5.10: Apariencia de las larva de último estadio de *E. connexa*.

La duración de estado larvario en laboratorio es 13 ± 15 días a 23°C (Montes, 1970; Etchegaray & Barrios, 1979; Etchegaray, 1982; Martos & Niemeyer, 1989).

Al término del cuarto estadio, la larva deja de alimentarse y permanece inmóvil por dos días. Durante este tiempo se fija al sustrato por el último segmento abdominal y el resto del cuerpo se curva, de modo que observada desde arriba presenta una forma convexa (Etchegaray & Barrios, 1979).

En la región anterior del cuerpo de la pupa, se presenta dos franjas de color anaranjado y se observan claramente los tres pares de patas de la larva que cuelgan como apéndices (Montes, 1970) (Fig. 5.11).

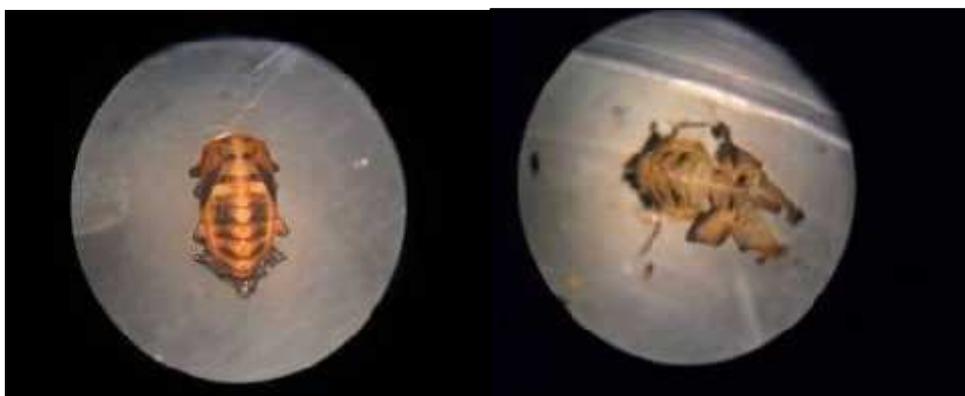


Figura 5.11: Aspecto de la pupa y exuvia de *E. connexa*.

La duración del estado de pupa en laboratorio es entre 7 u 8 días a 23°C (Montes, 1970; Etchegaray & Barrios, 1979; Etchegaray, 1982; Martos & Niemeyer, 1989).

El adulto emerge por el extremo anterior del pupario. La exuvia se observa partida en la línea medio-dorsal en la región cefálica y torácica y lateralmente en la región de los élitros (Etchegaray & Barrios, 1979) (Fig. 5.12).

E. connexa no posee dimorfismo sexual, pero los sexos se pueden diferenciar, porque antes de oviponer, la hembra presenta un abdomen abultado que los élitros no alcanzan a cubrir completamente (Etchegaray & Barrios, 1979) (Fig. 5.12).



Figura 5.12: Aspecto de la hembra de *E. connexa*.

El adulto tiene cuerpo compacto, ovalado, sin pelos. La cabeza prognata es negra, más angosta que el tórax. Las antenas tienen 11 segmentos pardo-amarillentos. El pronoto es negro en vista dorsal, aunque lateralmente presenta una franja anaranjada en su porción anterior y blanca en su parte posterior. Los élitros son negros, cada uno con cuatro grandes manchas anaranjadas que alcanzan hasta el borde lateral, originando una línea continua en el margen. Las patas son negras y tienen garras bífidas. El tórax y abdomen son negros ventralmente. Bajo condiciones controladas, el insecto permanece como adulto alrededor de 200 días (Etcheagaray & Barrios, 1979).

La cópula ocurre poco después de alcanzar el estado adulto hasta poco antes de la muerte, y es importante para la puesta de huevos fértiles (Martos & Neimeyer, 1989). Los adultos copulan los tres primeros días después de la emergencia y comienzan a poner huevos al día siguiente del apareamiento (Etcheagaray, 1982). El desarrollo en laboratorio desde la oviposición a la emergencia del adulto varió de 53,3 días a 14 °C a 10,9 días a 34 °C (Miller & Paustian, 1992).

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la “presa” criada sobre maíz Bt sobre aspectos biológicos: tiempo de desarrollo de los diferentes estadios larvales, tiempo de desarrollo intermuda, peso de los adulto, fecundidad y fertilidad de las hembras de *E. connexa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos fueron realizados en la cámara de cría perteneciente al Departamento de Producción Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Litoral), ubicada en la ciudad de Esperanza, Provincia de Santa Fe, Argentina.

Preparación del material empleado en los ensayos

Material vegetal, para la obtención de las plántulas de maíz que sirvieronde soporte a las crías de *S. frugiperda* y de *S. maydis*, se realizaron siembras continuas, dos veces por semana, de maíces *Bt* (evento DK190MGRR2) y convencional (híbrido 30P70) sobre sustrato de tierra y arena en una proporción de 20/80 respectivamente, en bandejas plásticas de 25 cm x 40 cm (Fig. 5.13).



Figura 5.13: Disposición y aspecto de las bandejas con plántulas de maíz, para la cría de insectos.

Condiciones de la cría de insectos: La cría se inició con la recolección periódica a campo, durante los meses de verano, de adultos y larvas de *E. connexa*, de colonias de *S. maydis* y de larvas de *S. frugiperda*, sobre cultivos de maíces no *Bt*, en la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Agrarias. Las crías de los insectos presa y del depredador como los ensayos se realizaron en cámaras de cría bajo condiciones controladas de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) la misma se midió con un termohidrografo digital (TFA Dostmann 305021.01), fotoperíodo (16+8 hs luz+oscuridad) y $60 \pm 10\%$ de humedad relativa (Fig. 5.14).



Figura 5.14: Disposición de los estantes de cámara de cría y termihidrografo digital.

Los adultos recolectados de *E. connexa* mantuvieron en recipientes plásticos cilíndricos de 15 cm de alto por 15 cm de diámetro, cubiertos en su parte superior con muselina. Diariamente fueron alimentados *ad libitum* con los pulgones criados en las plantas de maíz. Con igual procedimiento se criaron las larvas hasta el nacimiento de los adultos, los que posteriormente se introdujeron en grupos de 20 individuos a fin de formar parejas, las que se colocaron separadamente. Diariamente se separaron los desoves producidos. Se continuó con este procedimiento hasta lograr una población continua del depredador (Fig. 5.15).



Figura 5.15: Recipientes de cría de *Eriopsis connexa* alimentadas con áfidos.

Las larvas recolectadas al aire libre de *S. frugiperda*, fueron alimentadas con plantas frescas del híbrido de maíz *Bt* hasta la obtención de las pupas, una vez obtenidas se colocaron en jaulas de 0,50 m de largo, 0,40 m de ancho y 0,40 m de alto, con tres paredes de muselina y la superior con vidrio para la emergencia de los adultos. La finalidad de este procedimiento fue la obtención de los desoves, los que diariamente fueron separados y a partir de los cuales se criaron las larvas. Este procedimiento se continuó hasta lograr una producción continua de larvas y una cantidad que permitió la realización del trabajo. Para la realización de los estudios solo se utilizaron larvas de primer y segundo estadio, a fin de facilitar la captura por las larvas del predador. Previamente, se las alimentó como mínimo, durante 24 horas sobre plantines de maíz *Bt* y no *Bt* según tratamiento (Fig. 5.16).



Figura 5.16: Pasos seguidos para la cría en laboratorio de *Spodoptera frugiperda*.

Las colonias recolectadas de *S. maydis*, procedentes de cultivos al aire libre, fueron llevadas a laboratorio. Inmediatamente fueron inspeccionadas con el fin que no presenten ninguna clase de depredadores. Para asegurarse de la eliminación de parasitoides las colonias se mantuvieron en jaulas separadas del resto de población de áfidos. Los individuos parasitados fueron eliminados y el resto de la población se crió sobre el híbrido no *Bt*. Periódicamente, dependiendo del aumento poblacional las colonias fueron divididas y repicadas en plántulas nuevas, hasta lograr un nivel poblacional adecuado y constante (Fig. 5.17).



Figura 5.17: Vista de la metodología de cría de *Sipha maydis*, en bandejas de maíz.

- **Recolección de polen:** Se recolectaron inflorescencias masculinas de los mismos cultivares utilizados en los experimento en laboratorio, las que se colocaron en bolsas de papel y se conservaron en condiciones de 5-6 °C de temperatura, hasta la realización de los estudios de fecundidad y fertilidad.

Influencia de las presas en el ciclo de *E. connexa*

Se realizaron cuatro tratamientos que consistieron en alimentar las larvas recién nacidas de *E. connexa* con: 1) *S. maydis* criados con maíz *Bt*; 2) *S. maydis* criado con maíz no *Bt*; 3) *S. frugiperda* criadas con maíz *Bt* y, 4) *S. frugiperda* criadas con maíz convencional.

Mediante un pincel fino se colocaron individualmente larvas recién nacidas del depredador, provenientes de varios desoves, en cajas de Petri de 5 cm de diámetro (Fig. 5.18). Diariamente se las alimentó *ad-libitum* con las presas señaladas y se registraron las mudas de los distintos estadios larvales hastapupación, determinando la duración de este estado. Una vez emergido el adulto se los pesó, mediante balanza (Scaltec SBA 041) de precisión de tres decimales. Para cada tratamiento hubo 50 repeticiones y en caso de muerte de las larvas, éstas no se reemplazaron.



Figura 5.18: Vista de los ensayos de laboratorio, con los cuatro tratamientos realizados.

Influencia de las presas en los parámetros reproductivos de *E. connexa*:

Se realizó el seguimiento de la evolución de parámetros reproductivos en los adultos de *E. connexa* provenientes de los tratamientos del apartado 2: 1) *S. maydis* criados con maíz Bt; 2) *S. maydis* criado con maíz no Bt; 3) *S. frugiperda* criadas con maíz Bt y, 4) *S. frugiperda* criadas con maíz no Bt.

Los adultos se colocaron juntos agrupados por tratamiento, en jaulas de 0,30 m de alto, 0,25 m de largo y 0,25 m de altura, con la finalidad de separar las parejas que se encontraban copulando, obteniendo 20 parejas para *S. maydis* y 10 para *S. frugiperda*. Detectadas las parejas éstas fueron retiradas y se colocaron en recipientes plásticos de 0,5 m de diámetro y 0,7 m de alto, en cuyo interior se colocó papel absorbente para que sirviera de sustrato a los desoves y facilitar su retiro (Fig. 5.19).



Figura 5.19: Frasco utilizados para la oviposición de *E. connexa*.

La alimentación *ad libitum* de las parejas se continuó del mismo modo según el tratamiento del que provenían los adultos, adicionando además, polen proveniente de maíces *Bt* y no *Bt*. Para ello diariamente se colocaron 3-4 flores individuales masculinas, las que se renovaron diariamente. Los desoves se retiraron y se registró el número de huevos (fecundidad) y se colocaron individualmente a fin de determinar el número de larvas nacidas (fertilidad). Las observaciones se continuaron durante 30 días ya que es el período de mayor oviposición (Duarte *et al.*, 2009).

- **Análisis estadísticos:** Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA. Para determinar la existencia de diferencias entre los tratamientos planteados, se realizó una prueba de contrastes ortogonales previa transformación de los datos en log x. Los datos fueron procesados mediante el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina, 2011).

RESULTADOS

Influencia de la presa sobre el ciclo de *E. connexa*

La duración de los estadios larvales y la duración total del estado larval y pupal fueron afectados por la dieta. En los tres primeros estadios larvales, no hubo diferencias significativas según que las presas provinieran de maíces no *Bt* y *Bt*. Sin embargo, la duración fue mayor al suministrarse *S. frugiperda* (entre 25 y un 40% mayor en el primero; entre 253 y 296% mayor en el segundo y entre 57 y 90% en el tercero) (Cuadro 5.1).

En el cuarto estadio, la duración siguió siendo mayor al suministrarse *S. frugiperda* respecto de *S. maydis*, aunque en este caso, cuando el alimento fueron larvas del lepidóptero, la duración fue un 23% mayor ($p \leq 0.05$) cuando la cría provino del genotipo transgénico con respecto al no *Bt* (Cuadro 5.1).

El estado pupal también fue afectado por la dieta, siguiendo la misma tendencia de los estadios larvales y sin diferencias entre maíces *Bt* o no *Bt* (Cuadro 5.1).

La duración total del ciclo del predator reflejó las mismas diferencias entre *S. frugiperda* respecto de *S. maydis* ya señaladas en los estadios larvales. Sin embargo, al suministrar el lepidóptero, la diferencia observada entre maíz *Bt* y no *Bt* en el cuarto estadio larval, se reflejó en la duración total (Cuadro 5.1).

Cuadro 5.1: Duración, en días, de los estadios larvales, del estado pupal y del total del ciclo total de *E. connexa* (media \pm DE), alimentadas con *S. maydis* y *S. frugiperda*, criados sobre maíz Bt y no Bt.

Presa	1° estadio larval *	2° estadio larval*	3° estadio larval*	4° estadio larval*	Pupa*	Duración total del ciclo* (L-P)
<i>S. maydis no Bt</i>	2,32 \pm 0,62 a	1,58 \pm 0,67 a	2,00 \pm 0,35 a	3,96 \pm 0,40 a	3,14 \pm 0,35 a	16,10 \pm 1,02 a
<i>S. maydis Bt</i>	2,40 \pm 0,53 a	1,50 \pm 0,65 a	2,10 \pm 0,30 a	4,06 \pm 0,42 a	3,18 \pm 0,39 a	16,00 \pm 0,81 a
<i>S. frugiperda no Bt</i>	2,92 \pm 1,09 b	5,59 \pm 2,44 b	3,15 \pm 1,06 b	6,38 \pm 0,98 b	3,60 \pm 0,66 b	24,51 \pm 1,99 b
<i>S. frugiperdaBt</i>	3,37 \pm 0,67 b	5,94 \pm 1,20 b	3,83 \pm 1,01 b	7,88 \pm 0,78 c	3,51 \pm 0,56 b	27,74 \pm 1,38 c

*Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Test de contrastes ortogonales ($p < 0,01$).

Cuando en la alimentación se emplearon áfidos no se observaron muertes de larvas en ningún tratamiento ni estadio del desarrollo, concluyéndose el trabajo con las 50 larvas iniciales. Cuando el alimento fueron larvas de *S. frugiperda* alimentadas sobre maíz no *Bt*, las muertes se dieron 13 entre el nacimiento y la primera muda, 3 entre la primera muda y la segunda y 1 entre segunda y tercera muda. Cuando el alimento fueron las larvas de *S. frugiperda* alimentadas con maíz *Bt* las muertes se distribuyeron, 12 entre nacimiento y primera muda, 2 entre primera y segunda muda y 1 entre segunda y tercera muda; finalizando el ensayo con 34 y 35 individuos (32 y 30 % de mortandad), que llegaron a completar el ciclo. De estas muertes el 80% se dio en el primer estadio larval de *E. connexa*.

En el peso de los adultos, se observó una significativa disminución de 49% cuando su dieta fue *S. frugiperda* (Fig. 5.20). Con ninguna de las presas suministradas se registraron diferencias en el peso que estuvieran vinculadas a la crianza en maíces no *Bt* y *Bt*.

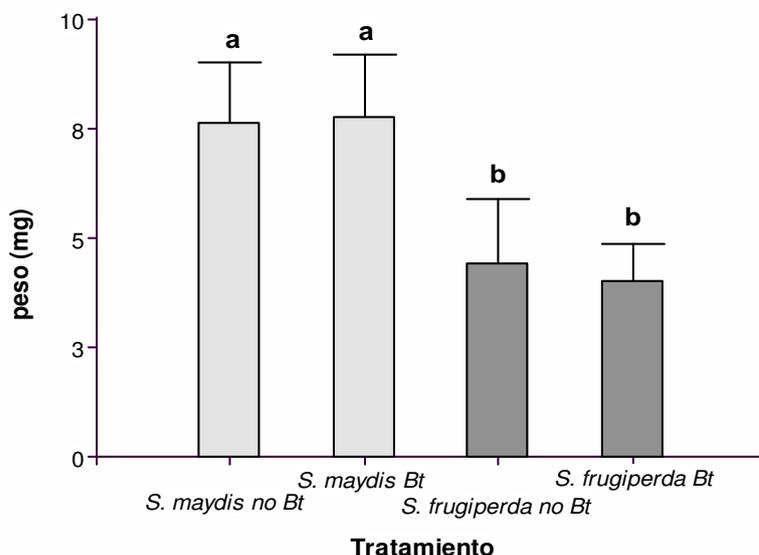


Figura 5.20: Peso medio de los adultos (mg.) (\pm DE) de *E. connexa* alimentados con ninfas de *S. maydis* y larvas de *S. frugiperda*, criados sobre maíces no *Bt* y *Bt*.

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,01$) de acuerdo al test de contrastes ortogonales.

Influencia de las presas en los parámetros reproductivos de *E. connexa*

La fecundidad de *E. connexa* fue significativamente menor cuando se alimentó con *S. frugiperda*, siendo la cantidad de huevos puestos un 46% menos que al alimentarla con *S. maydis* (Cuadro 5.2). También se hallaron diferencias significativas en la cantidad de huevos entre *E. connexa* criadas con *S. frugiperda* sobre maíz convencional o *Bt*, siendo un 63% menor la cantidad de huevos en este último.

Cuadro 5.2: Fecundidad de *E. connexa* (media \pm DE), alimentada con ninfas de *S. maydis* y larvas de *S. frugiperda*, criados sobre maíces no *Bt* y *Bt*.

Tratamientos	Nº de posturas	Nº huevos*
<i>S. maydis</i> no <i>Bt</i>	9	241,50 \pm 6,48 a
<i>S. maydis</i> <i>Bt</i>	9	241,35 \pm 7,20 a
<i>S. frugiperda</i> no <i>Bt</i>	8	131,10 \pm 2,77 b
<i>S. frugiperda</i> <i>Bt</i>	8	48,60 \pm 1,78 c

*Letras diferentes en la columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Test de contrastes ortogonales ($p < 0,01$).

La fertilidad, representada por la cantidad de individuos nacidos por postura, no fue afectada por ninguna de las dietas ofrecidas, alcanzando valores de alrededor de 50% de nacimiento para todos los tratamientos (Cuadro 5.3).

Cuadro 5.3: Fertilidad media (\pm DE) de *E. connexa* alimentada con *S. maydis* y *S. frugiperda* criadas sobre los maíces *Bt* y no *Bt*.

Fertilidad	Media
<i>S. maydis</i> <i>Bt</i>	50,49 \pm 0,82
<i>S. maydis</i> no <i>Bt</i>	50,52 \pm 1,11
<i>S. frugiperda</i> <i>Bt</i>	50,42 \pm 1,00
<i>S. frugiperda</i> no <i>Bt</i>	50,09 \pm 1,47

DISCUSIÓN

Los resultados hallados en la duración del ciclo larval no fueron influenciados cuando la alimentación larval fue con *S. maydis*, tanto criados sobre maíces *Bt* como convencional, similares resultados fueron obtenidos por Dutton *et al.*, (2002) para el depredador *Chysoperla carnea* (Stephens), que no vio afectada la duración del ciclo larval al ser alimentado con áfidos, ya sea criados sobre maíces *Bt* o convencional. También Dogan *et al.* (1996) demostraron que *Hippodamia convergens* (Guering-Meneville) no se modificó afectado su supervivencia, consumo de áfidos, desarrollo o reproducción, cuando se alimentó de *Myzus persicae* (Sulzer) criados sobre plantas de papas *Bt*. Esto pudo deberse a que los pulgones, no ingieren la toxina debido a que la misma no es transportada por el floema (Lozzia *et al.*, 1998; Raps *et al.*, 2001). Así Dutton *et al.* (2002) solo se hallaron pequeñas cantidades de la toxina *Cry1Ab*, en análisis realizados a *Rhopalosiphum padi* L, mientras que plagas que se alimentan de los tejidos completos, como *Tetranychus urticae* (Koch) y *S. littoralis* (Boisduval), la actividad biológica de la toxina *Cry1Ab* se mantuvo, después de haber sido ingerida, reduciendo la calidad de la presa y afectando el desarrollo de las larvas del predador (Obrist *et al.*, 2006). Estos autores estudiaron el efecto de presas criadas con material genéticamente mejorado sobre *C. carnea*.

Respecto de la duración de los distintos estadios larvales de *E. connexa* cuando el alimento fueron larvas de *S. frugiperda*, Obrycki *et al.* (1989) y Klingen *et al.* (1996) observaron que el depredador *C. carnea* se desarrollo más lentamente y tuvo una mayor tasa de mortalidad cuando el alimento fueron larvas de lepidópteros, comparado con otras presas. Además, es de esperar que los predadores que poseen aparato bucal masticador, como los coccinélidos, incorporen la toxina al predar artrópodos alimentados sobre plantas *Bt*, porque consumen el intestino, que es donde se localizan las toxinas (Romeis *et al.*, 2006).

Respecto de los altos porcentajes de mortandad que se registraron (32%), especialmente en el primer estadio larval cuando la dieta fueron larvas de lepidópteros, coinciden con los hallados por (Hilbeck *et al.*, 1998b) quienes encontraron que en larvas de *C. carnea* la mortalidad aumentó al 62% cuando se utilizó como presa *Ostrinia nubilalis* (Hübner) criada en maíz *Cry1Ab* versus *S. littoralis*, en que la mortalidad fue

del 37%. La fecundidad fue afectada en forma significativa por la dieta larval, por lo que en este estado de desarrollo la alimentación sería un factor limitante en la formación de huevos, no así en la viabilidad de los mismos. Los índices de reproducción para los tratamientos con polen difirieron significativamente entre sí, por lo que la toxina de *Bt* tendría efectos negativos. Estos resultados contrastan con los de (Bai *et al.*, 2005) cuando estudiaron la expresión de la toxina en polen del arroz sobre *Propylea japonica* (Thunberg). Para este mismo coccinélido (Zhang *et al.*, 2006b) concluyeron que no se modificó la supervivencia y el desarrollo larval, la mortalidad pupal, la fecundidad y la longevidad del adulto.

La alimentación larval puede clasificarse en óptima, adecuada o marginal (Michaud, 2005) y, en general, el crecimiento, la supervivencia y la reproducción de un depredador son mejores cuando la presa es óptima. De acuerdo a nuestros resultados los áfidos resultaron ser una mejor presa que las larvas de lepidópteros, ya que el ciclo fue más corto y el peso de los adultos mayor y, este último parámetro, parece estar asociado a la fecundidad; a iguales conclusiones llegaron Vargas *et al.* (2012) con el coccinélido *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville quienes concluyeron que, restricciones en la alimentación larval limitan el tamaño del cuerpo de las hembras y, por ende la fecundidad, entre otros parámetros. Por lo antes mencionado las larvas de lepidópteros presas cuando se crían sobre maíz transgénico alteran la performance del de predador nativo *E. connexa* y, por lo tanto su potencialidad como agente del control natural de las plagas en los sistemas agrícolas.

CONCLUSIONES

Este trabajo sugiere que, las plagas “target” alimentadas con plantas genéticamente modificadas pueden tener efectos negativos sobre los predadores, alargando su ciclo de desarrollo y afectando la fecundidad del mismo.

Los áfidos, no tienen efectos directos sobre el ciclo y los aspectos reproductivos de *E. connexa*, al ser alimentados con maíces modificados genéticamente.

BIBLIOGRAFÍA

- ALONSO ÁLVAREZ, R. (1991). Reseña histórica y aspectos bioecológicos del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*(J.E.Smith). In: Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (el gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. ZULUAGA, J. L. & G. MUÑOZ (comp., ed.) Cali, Colombia 96p. pp. 12-14.
- ANGULO, J. M. (2000). Manejo del Gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas, en: <http://www.agronet.gov.co>.
- ARTIGAS, N. J. (1994). Entomología económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles a ser introducidos). Universidad de Concepción, Chile (eds) (2): 624-627.
- BAI, Y. Y.; M. X. JIANG & J. A. CHENG (2005). Effects of transgenic cry1Ab rice pollen on fitness of *Propylea japonica* (Thunberg). J Pest Sci. 78: 123-128.
- BONNEMAISON, L. (1980). Wheat principal animal pest. Wheat Document Ciba Geigy Technical Monograf. 95 p.
- CHACÓN CASTRO, Y.; C. GARITA ROJAS.; C. VAGLIO CEDEÑO & V. VILLALBA VELÁSQUEZ (2009). Desarrollo de una metodología de crianza en laboratorio del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como posible hospedante de insectos biocontroladores de interés agrícola. Tecnología en marcha. 22 (4): 28-37.
- DELFINO, M. A. (2002). Dos especies de pulgones de interés fitosanitario nuevas para la afidofauna argentina (Hemiptera: Aphididae). XI Jornadas Fitosanitarias Argentinas. UNRC, Córdoba. Facultad de Agronomía y Veterinaria (Resúmenes). 123 pp.
- DICKE, F. F. & W. D. GUTHRIE (1988). The most important corn insects. In: Sprague, G.F. & J.W. Dudley (eds.). Corn and corn improvement. ASA, CSSA, and SSSA Publishers, Madison, Wisconsin p. 767-867.

- DI RIENZO J. A.; M. G. BALZARINI; L. GONZÁLEZ; F. CASANOVES; M. TABLADA & C. W. ROBLEDO (2011). InfoStat, versión 2013, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- DOGAN, E. B.; R. E. BERRY; G. L. REED & P. A. ROSSIGNOL (1996). Biological parameters of convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on aphids (Homoptera: Aphididae) on transgenic potato. *J. Econ Entomol.* 89: 1105-1108.
- DUARTE GOMEZ; W. & I. ZENNER DE POLANIA (2009). TABLA DE VIDA DEL CUCARRÓN DEPREDADOR *Eriopis connexa connexa* (Germar) (COLEOPTERA:COCCINELLIDAE). *rev.udcaactual.divulg.cient.* [online]. vol.12, n.2, pp. 147-155. ISSN 0123-4226.
- DUTTON, A.; H. KLEIN; J. ROMEIS & F. BIGLER (2002). Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequence for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27:441-447.
- DUTTON, A.; J. ROMEIS & F. BIGLER (2003). Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: *Bt*-maize expressing Cry1Ab as a case study. *Biocontrol.* 48: 611-636.
- EL-YAMANI, M. & J. H. HILL (1991). Aphid vectors of barley yellow dwarf virus in West-Central Morocco. *J. Phytopathol.* 133(2): 105-111.
- ETCHEGARAY, J. & S. BARRIOS (1979). Ciclo de vida de *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae). *Anales del Museo de Historia Natural de Valparaíso.* (Chile) 12: 185-194.
- ETCHEGARAY, J. (1982). Variación temporal de los estados de desarrollo de *Eriopis connexa* (Germar) (Coccinellidae) en Chile Central. *Ambientes terrestres.* 6 (1): 3-8.
- HILBECK, A.; M. BAUMGARTNER; P. M. FRIED & F. BIGLER (1998 a). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development

time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Environ. Entomol. 27: 480-487.

HILBECK, A.; W. J. MOAR; M. PUSZTAI CAREY; A. FILIPPINI & F. BIGLER (1998b). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Environ. Entomol. 27: 1255-1263.

HODEK, I.(1973). Biology of coccinellidae. Dr. W. Junk Publishers (eds.). The Hague, Neederlands. 254 pp.

IMWILKELRIED, J. M.; F. D. FAVA & E. V. TRUMPER (2004). Pulgones que atacan al cultivo de trigo. INTA. EEA. Manfredi. Boletín N° 7. 6 p.

JASSIC, J. & M. REINÉS (1974). Estudio experimental de la influencia de la temperatura en la palomilla del maíz. Ciencias (4). 44:1-19.

JERVIS M. & M. COPLAND (1996). The live cycle. In: Jervis M. & N Kidd (eds.). Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation. Chapman & Hall, London, UK. p. 62-161.

LOZZIA, G.; C. FURLANIS; B. MANACHINI & I. RIGAMONTI (1998). Effects of *Bt* corn on *Rhopalosiphum padi* L. (Rhynchota, Aphididae) and on its predators *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae). Bollettino di Zoologia Agraria e Bachicoltura. 30 (2):153-164.

LUNDGRE, J. G. & R. N. WIEDENMANN (2005). Tritrophic interactions among Bt (Cry3Bb1) corn, aphid prey, and the predator *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). Environ. Entomol. 34(6): 1621-1625.

MARTOS, A. & H. M. NIEMEYER (1989). Dos estudios sobre la crianza masal del coccinélido *Eriopsis connexa* Germar. Revista Peruana de Entomología. 32: 50-52.

MICHAUD J. P. (2005). On the assessment of prey suitability in aphidophagous Coccinellidae. Eur. J. Entomol. 102: 385-390.

- MILLER, J. C. & J. PAUSTIAN (1992). Temperature-dependent development of *Eriopis connexa*. Environ. Entomol. 21: 1139-1142.
- MONTES, F. (1970). Biología y morfología de *Eriopis connexa* Germar, 1824 y *Adalia bipunctata* Linnaeus, 1758 (Coleoptera). Publicaciones del Centro de Estudios Entomológicos, Universidad de Chile. 10: 43-56.
- MURILLO, A. (1991). Distribución, importancia y manejo del complejo *Spodoptera* en Colombia. In: Memorias Seminario. *Spodoptera frugiperda* (el gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. ZULUAGA, J. L. & G. MUÑOZ (comp.ed.) Cali, Colombia 96p. pp. 15-23.
- OBRIST, L. B.; A. DUTTON; J. ROMEIS & F. BIGLER (2006). Biological activity of Cry1Ab toxin expressed by *Bt* maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. BioControl. 51:31-48.
- OBRYCKI, J. J.; HAMID, M. N. Y S. A. SAJAP (1989). Suitability of corn insect pests for development and survival of *Chrysoperla carnea* and *Chrysopa oculata* (Neuroptera: Chrysopidae). Environmental Entomology, 18: 1126-1130.
- PEAIRS, F. & J. SAUNDERS (1981). Plant damage and yield response to *Diatraea saccharalis* and *Spodoptera frugiperda* in selection cycles of two tropical maize populations in Mexico. Turrialba 31: 55-62.
- PIEDRA, F. (1974). Effect of different forage diets on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). Cuban. J.Agric.Sci. (English Ed.).8:99-103.
- PILCHER, C. D.; M. E. RICE & J. J. OBRYCKI (2005). Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. Environ. Entomol. 34: 1302-1316.
- RAPS A.; J. KEHR & P. GUGERLI (2001). Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the non-target herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. Mol Ecol. 10: 525-533.

- RÍOS DE SALUSO, M. L. A. (2002). Nueva plaga para los sorgos graníferos de la zona. INTA-EEA Paraná. Información Técnica 1(5). 2 pp.
- ROMEIS, J.; M. MEISSLER & F. BIGLER (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. Nat. biotechnol. 24(1): 63-71.
- SALTO, C.; I. BERTOLACCINI; J. M. IMWINKELRIED & J. FRANA (1990). Parámetros biológicos e influencia de distintos niveles alimenticios en el desarrollo de *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). INTA EEA. Rafaela, Public. Téc. N° 50. 12 p.
- SCHULER, T.; G. POPPY; B. KERRY & I. DENHOLM (1999). Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropods natural enemies. Rev. Tibtech. 17: 210-216.
- VAN EMDEN, H. F. (1991). The role of host plant resistance in insect pest mismanagement. Bull. Entomol. Res. 81: 123-126.
- VARGAS, G.; J. MICHAUD & J. R. NECHOLS. (2012). Larval Food Supply Constrains Female Reproductive Schedules in *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). Annals of the Entomological Society of America 105 (6): 832-839.
- VIANA, P. A.; J. M. WAQUIL; F. VALICENTE & I. CRUZ (2004). Ocorrência e controle de pragas na safrinha de milho nas regiões Norte e Oeste do Paraná. Embrapa. Circular Técnica N° 45. 8pp.
- WILLINK, E.; V. M. OSORES & M. A. COSTILLA (1993). Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. Rev. Ind. y Agric. de Tucumán 70(1-2) 49:52.
- ZHANG, G. F.; F-H WAN; G. L. LÖVEI; W. X. LIU & J. Y. GUO (2006a). Transmission of *Bt* toxin to the predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) through its aphid prey feeding on transgenic Bt cotton. Environ. Entomol. 35(1): 143-150.

ZHANG, S. Y.; D. M. LI; J. CUI & B. Y. XIE (2006b). Effects of Bt-toxin Cry1Ac on *Propylaea japonica* Thunberg (Coleoptera: Coccinellidae) by feeding on Bt-treated Bt-resistant *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Appl Entomol.* 130(4): 206-212.

ZHU, S.; J. SU; X. LIU; L. DU; E. N. YARDIM & F. GE (2006). Development and reproduction of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) raised on *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) fed transgenic cotton. *Zoological Studies.* 45(1): 98-103.

CONCLUSIONES GENERALES

Como conclusiones generales podemos afirmar que la plaga objetivo del control de los maíces transgénicos *D. saccharalis*, fue exitosamente controlada por dichos maíces, observando se poblaciones muy bajas y no se detectó daño. Para esta misma plaga en los maíces convencionales las poblaciones fueron significativamente más abundantes y los daños que se presentaron fueron de consideración. En relación a *S. frugiperda*, si bien se recolectaron larvas, no se observaron daños en los maíces *Bt*, contrariamente en los maíces no *Bt*, las poblaciones fueron abundantes y los daños de consideración.

En relación a las plagas no objetivo del control, no se observó insidencia de los maíces transgénicos, contrariamente se observó un incremento de la densidad poblacional de áfidos en comparación con el genotipo no *Bt*. Lo que podría deberse a una mayor concentración de aminoácidos en los maíces transgénicos.

No se encontraron diferencias en los índices de diversidad de artrópodos fitófagos, presentándose las mismas especies, en los dos tipos de cultivos evaluados.

Respecto a la inducción de plagas secundarias la familia Otitidae, con la especie *Euxesta* sp., presentó una mayor abundancia en el maíz *Bt* posiblemente debido a la disminución del uso de plaguicidas, para el control de plagas objetivo y también podría deberse a la menor abundancia de enemigos naturales. Las especies plaga del orden Coleoptera fueron más abundantes en los maíces *Bt*, *D. speciosa*, lo cual debería tenerse en cuenta debido a la importancia de la misma como plaga clave del maíz en otros países del mundo. Las especies *D. abderus* y *Cyclocephalasp.*, también fueron más abundantes en el genotipo *Bt*. Esto podría estar mostrando el riesgo de una posible aumento de plagas secundarias en los maíces *Bt*.

En relación a los enemigos naturales, no existieron diferencias en la diversidad de especie entre los dos híbridos evaluados pero se pudo observar diferencias significativas en la abundancia de los mismos, siendo significativamente mayor en los maíces convencionales, asociada posiblemente a la mayor cantidad de señales químicas por parte de los cultivos.

Los maíces no *Bt* presentaron mayor abundancia de parasitoides, pero los porcentajes de parasitismo efectivo fueron similares en los dos híbridos.

La medición de la evolución de las poblaciones a lo largo de las cinco campañas agrícolas permitió determinar una leve disminución de la abundancia de artrópodos benéficos en los maíces *Bt*.

No existieron diferencias en la abundancia total de artrópodos entre las diferentes campañas agrícolas.

Este trabajo sugiere que, las plagas “target” alimentadas con plantas genéticamente modificadas pueden tener efectos negativos sobre los predadores, alargando la duración del ciclo de desarrollo y afectando la fecundidad del mismo.

Los áfidos, alimentados con maíces transgénicos no tienen efectos directos sobre el ciclo y los aspectos reproductivos de *E. connexa*, al ser alimentados con maíces modificados genéticamente.