



Estrategias de manejo y mitigación de la resistencia de plagas a maíces Bt

Eduardo V. TRUMPER; Juan C. GAMUNDI; Evangelina PEROTTI; Fernando FAVA; Diego SZWARC; Fernando FLORES; Federico MASSONI; Daniel DUCASSE

Introducción

Se puede entender el Manejo Integrado de Plagas (MIP) como un manifiesto que apela al diseño de sistemas productivos que minimicen la emergencia e incidencia de plagas, y al uso de criterios científicamente fundamentados para la toma de decisiones de manejo preventivo o correctivo apuntando a minimizar los riesgos económicos, ambientales y sociales, articulando diversas opciones de manejo cultural, biológico, químico, etc. (Kogan, 1998; Mitchel & Hutchison, 2009; FAO, 2014). El MIP es el enfoque de más amplia aceptación para abordar la protección de cultivos, llegando a integrar la agenda política de organismos oficiales (Peshin & Zhang, 2014). Sin embargo, la confluencia del desarrollo tecnológico y la preferencia del productor de cultivos extensivos por soluciones simples y eficientes, desemboca frecuentemente en la concentración del manejo en una única herramienta.

Los cultivos con propiedades insecticidas, más específicamente los cultivos Bt, constituyen una herramienta de control de insectos plaga que ha penetrado profundamente en la agricultura de muchos países que producen cultivos extensivos e industriales. En 2013, la superficie sembrada con cultivos Bt a nivel mundial llegó a las 75 millones de hectáreas (ISAAA, 2014), mientras que en Argentina, en la campaña 2012/2013/14, se alcanzaron entre 3,5 y 4 millones ha, representadas principalmente (entre 85% y 98%, período 2000-2011) por maíz Bt (ArgenBio, 2014). La curva de adopción de esta tecnología ilustra la velocidad con que los agricultores la han incorporado. Esta alta tasa de adopción es producto de la intersección de una campaña de promoción altamente efectiva y la propensión del productor a afrontar el costo por un seguro frente al ataque de plagas que en muchos casos tienen la potencialidad de provocar importantes pérdidas de rendimiento. Sin embargo, la adopción masiva de una misma medida de control sin aplicar las recomendaciones técnicas pertinentes, es un ingrediente esencial para incrementar la velocidad de adaptación de la(s) plaga(s) blanco, y en consecuencia la erosión de los beneficios de la propia tecnología.

La resistencia de insectos plagas a cultivos Bt es una de las mayores preocupaciones actuales en el marco de la protección vegetal en aquellos países que, como Argentina, han aceitado los procesos para la autorización de uso comercial. Las inquietudes en torno a la evolución de resistencia de insectos plaga a cultivos Bt son de diversa índole, e incluye al menos las siguientes:

- a) Una fracción creciente de los productores identifica una disminución del retorno a la inversión que afronta con el precio diferencial de un híbrido de maíz Bt. Inquietudes de este tipo han llegado a plantearse a las instituciones públicas.
- b) Las compañías semilleras ven amenazada la posibilidad de sostener su oferta rentable de una tecnología que ha gozado de alta aceptación en el mercado.

- c) El sector público interpreta a la susceptibilidad original de las plagas blanco como un bien común, y por tanto su pérdida constituye una consecuencia indeseable que merece intervención.
- d) En ocasiones, el mismo sector público se ve interpelado por algunas entidades de productores para tomar posición ante la pérdida de eficacia de los híbridos Bt.

Esta presentación tiene como objetivo, repasar los aspectos clave de la teoría de evolución de resistencia de insectos a cultivos Bt y desprender de ellos las principales pautas de manejo, mitigación y remediación.

¿Qué es la resistencia?

Para controlar una plaga, con frecuencia se emplean medidas que provocan altos niveles de mortalidad, como insecticidas o toxinas Bt. Si en esa población existen algunos individuos capaces de tolerarlos y esa capacidad es heredable, entonces ante el uso continuo de esa medida ocurrirá un proceso de selección direccional, es decir la supervivencia sólo de aquellos individuos pre-adaptados por contar con un gen de resistencia. La presión de selección es la intensidad de esa supervivencia diferencial. A mayor presión de selección, más veloz es el proceso de selección direccional que lleva a la adaptación de la población.

La resistencia es el carácter heredable consistente en la menor susceptibilidad (fenotipo) de un insecto (individuo) a la toxina Bt en relación a individuos de la misma población. Al definir a la resistencia como un carácter heredable, se debe considerar el genotipo que lo determina y su frecuencia en la población, la que frente a la presión de selección que ejerce el insecticida, crecerá en el tiempo (Caprio *et al.*, 2008). La resistencia de campo a una toxina Bt (*field-evolved resistance* en la literatura internacional vigente) es la menor susceptibilidad de una población de insectos como consecuencia de la exposición a esa toxina a campo, en relación a la línea base de susceptibilidad, previa a la introducción de la toxina (Bernardi *et al.*, 2012). Por otra parte, se define a la evolución de resistencia de campo a una toxina Bt como el proceso de selección natural que provoca una disminución de la susceptibilidad (a la toxina Bt) en una población a campo (Heckel, 2012).

¿De qué depende la evolución de resistencia?

Numerosos factores inciden en la velocidad con que puede aumentar el nivel de resistencia en una población. Se puede establecer una jerarquía de influencia, desde los factores que intervienen en forma directa hasta aquellos que lo hacen indirectamente. Los factores primarios son: a) la presión de selección; b) la ventaja de fitness de los heterocigotas; c) la frecuencia del alelo resistente. La presión de selección está determinada por la proporción del área de cultivo sembrada con la misma toxina Bt, tanto a escala regional como local. La ventaja de fitness de los heterocigotas es la diferencia de tasa de supervivencia a favor de los individuos que portan un alelo resistente (a mayor ventaja de fitness, más rápidamente avanza la evolución de resistencia). A su vez, sobre éste inciden la concentración de la toxina Bt en los tejidos de la planta (efecto negativo) y el nivel de dominancia del alelo de resistencia (efecto positivo). Respecto a la frecuencia del alelo de resistencia, ésta constituye un factor y un efecto al mismo tiempo. La velocidad de incremento de la resistencia es justamente la rapidez con que crece el porcentaje de alelos

resistentes en la población en un proceso de retroalimentación positiva: a mayor frecuencia del alelo resistente, más rápidamente avanza la resistencia, al menos hasta que la población alcanza aproximadamente el 50% de resistencia.

¿En qué consiste la estrategia de Alta Dosis – Refugio?

Desde la liberación comercial del primer cultivo Bt, los expertos referentes internacionales propusieron la estrategia conocida como Alta Dosis-Refugio (AD-R) para disminuir la tasa de evolución de resistencia. Esta estrategia se apoya en supuestos (Andow 2008; Huang et al. 2011; Siegfried et al. 2014) acerca del efecto de algunos de los factores que influyen en el proceso de adaptación poblacional.

Bajo el supuesto de una muy baja frecuencia del alelo de resistencia al momento de introducir el cultivo con una determinada toxina Bt, se espera que los insectos homocigotas (dos alelos iguales) resistentes sean extremadamente raros y por lo tanto la evolución de resistencia está determinada casi exclusivamente por la frecuencia y la supervivencia de los individuos heterocigotos (un alelo de cada tipo) (Bates et al 2005). Si la toxina Bt se expresa en la planta con una concentración suficientemente elevada como para provocar la mortalidad no sólo del 99.99% de los homocigotas susceptibles, sino también más del 95% de los heterocigotas. Esto equivale a definir a la alta dosis como la concentración de toxina a la cual la resistencia se hereda como un alelo recesivo o casi recesivo, de tal modo que los individuos heterocigotos (RS) serán casi tan susceptible como los individuos homocigotas susceptibles (SS) (Andow 2008; Huang et al. 2011).

Otro de los supuestos es que el carácter de resistencia de la plaga es recesivo, de modo tal que los individuos heterocigotas deben ser eliminados por la toxina Bt. En consecuencia, sólo los individuos homocigotas resistentes podrían completar su ciclo en un cultivo Bt (Bates et al. 2005; Bourguet et al 2005). Este supuesto y el de Alta Dosis están estrechamente relacionados. En efecto, el nivel de dominancia está determinado por la tolerancia que confiere el alelo de resistencia y por la concentración de la toxina (Ferré et al 2008). Cuando el alelo de resistencia es completamente dominante, la influencia de la concentración de toxina es secundaria.

¿Refugio estructurado o refugio en bolsa? Ventajas y desventajas

El refugio estructurado consiste en concentrar las plantas convencionales en un sector definido del lote, ya sea en franjas laterales, perimetrales y/o centrales, dependiendo de las dimensiones del lote (Yang et al. 2010). La proporción del lote que se destina al refugio estructurado depende de varios factores. En general se tiende a sembrar refugios de mayor área cuanto más favorables sean las condiciones para la evolución de resistencia. Dependiendo de la plaga blanco y el cultivo Bt, se han propuesto dos modalidades de refugio estructurado: a) intangible, sin aplicación de insecticidas para el control de la plaga blanco; b) con la admisión del control químico de la plaga blanco. Con el primer enfoque se proponen refugios de área 2 a 4 veces menores que con el segundo enfoque.

El refugio integrado, también conocido como *refugio en la bolsa*, consiste en mezclar las semillas de las variedades convencional y Bt para luego sembrarlas en toda el área del lote. Por definición, el refugio integrado es intangible, es decir no está sujeto a la aplicación de insecticidas para el control de la plaga blanco, como

Eliminado ;

puede plantearse en el caso del refugio estructurado. Por lo tanto, el porcentaje de semilla convencional que se emplea en el refugio en bolsa es considerablemente menor que el porcentaje destinado al refugio estructurado. En la Argentina, el INASE autorizó mediante Resolución 112/2014 la comercialización de mezcla de semilla de maíz Bt y convencional de clase fiscalizada para implementar el refugio integrado, estableciendo que el componente minoritario no deberá ser menor al 5% en híbridos con eventos Bt apilados y no menor a 10% en híbridos con un sólo evento Bt.

En general se considera que el refugio estructurado es más conveniente como contribución al manejo de la resistencia. No obstante, su adopción en Argentina se debilitó ostensiblemente llegando a caer a niveles muy bajos, al punto de poner en serio riesgo la estrategia de manejo de la resistencia en la gran región maicera. En el caso del refugio integrado la movilidad de las larvas entre plantas Bt y convencionales (Andow, 2008; Storer *et al.*, 2012), se señala como su principal desventaja: a) el movimiento de larvas homocigotas susceptibles desde plantas convencionales hacia plantas Bt, reduce el tamaño efectivo del refugio; b) las larvas neonatas portadoras de un alelo resistente pero fenotípicamente susceptibles por la alta dosis, pueden sobrevivir suficiente tiempo sobre las plantas Bt como para dispersarse a plantas convencionales en las que puede completar el desarrollo. Así, los individuos heterocigotas se convierten en funcionalmente resistentes, y la evolución de resistencia se acelera sensiblemente. Por otra parte, la preferencia de las hembras de *Spodoptera frugiperda* para desovar en plantas de maíz Bt debido a su estado sanitario (Téllez-Rodríguez *et al.*, 2014), puede acentuarse cuando ambas plantas se encuentran en mayor proximidad, como es el caso de un refugio integrado, provocando una disminución del tamaño efectivo del refugio.

¿Los eventos Bt acumulados son la solución?

La incorporación de al menos dos toxinas Bt, cada una confiriendo alta toxicidad (Ives *et al.*, 2011) con diferentes modos de acción para una misma plaga blanco, a los efectos de evitar la resistencia cruzada a las distintas toxinas, se conoce como "piramidación". Esta táctica asume que la resistencia puede estar gobernada por dos genes di-alélicos, de modo que la resistencia completa requeriría que los insectos tuviesen alelos de resistencia recesivos en cada locus (Tabashnik *et al.*, 2004). El supuesto subyacente de esta táctica es que los diferentes modos de acción de las toxinas involucradas implican que la probabilidad de que un insecto de la población blanco sea portador de un genotipo resistente a las toxinas Bt incorporadas en una misma planta es extremadamente baja (Tabashnik *et al.*, 2013). No obstante, el hallazgo de algunos casos de resistencia cruzada (Jackson *et al.*, 2007; Hernández-Rodríguez *et al.*, 2013), en algunos casos hacen dudar de la generalidad de este principio (Tabashnik *et al.*, 2013).

El uso de eventos piramidados constituye una herramienta potente para minimizar la tasa de evolución de resistencia. Sin embargo, esta ventaja depende de algunas condiciones. Un supuesto clave para el éxito es el cumplimiento de lo que se conoce como letalidad redundante (Brévault *et al.*, 2013). De acuerdo a este principio, cada toxina del conjunto provoca por sí misma alta mortalidad en los insectos homocigotos susceptibles (Storer *et al.*, 2012).

¿Cuánto contribuye el refugio a demorar la evolución de resistencia?



La siembra de refugio es un componente clave en la estrategia de manejo de la resistencia de insectos plaga a cultivos Bt. Su función se puede sintetizar en dos grandes contribuciones: la disminución de la presión de selección y la generación de individuos susceptibles que contribuyen con el llamado "efecto dilución" al aparearse con los insectos resistentes que eventualmente puedan emerger del cultivo Bt (Andow 2008). Diversos modelos de simulación han ilustrado la importancia del refugio y la experiencia ha confirmado que los casos documentados en los que evolucionó resistencia a campo, tuvieron baja adopción del refugio. No obstante, debe considerarse que el éxito de la estrategia Alta Dosis-Refugio radica en el cumplimiento de todos sus supuestos (Andow et al. 2015).

Una vez sembrado, ¿Cómo manejar el refugio?

Ésta es una de las preguntas más importantes a resolver. Si el objetivo del refugio es proveer suficientes adultos susceptibles para que se crucen con los adultos resistentes que puedan emerger del cultivo Bt, entonces cabe preguntarse cuál es el tamaño de refugio apropiado pero también cuál es el manejo de plagas recomendable en el refugio. A fines de los 90, la EPA encomendó a un grupo de expertos la elaboración de recomendaciones para definir el tamaño y disposición espacial de los refugios así como también la decisión de intervenir o no con control químico. El panel de expertos definió como regla general que, asumiendo una baja frecuencia inicial del alelo resistente, el refugio debe aportar, por cada insecto resistente, al menos 500 adultos susceptibles que lleguen al área sembrada con el cultivo Bt para maximizar la probabilidad de que se crucen con los eventuales resistentes que sobrevivan. Esta es una regla general comentada por diversos investigadores en la bibliografía especializada. Sin embargo, sus fundamentos no han sido expuestos detalladamente, de modo que no resulta sencillo extrapolarla a los sistemas conformados por nuestros cultivos y nuestras plagas.

Bibliografía

Andow D.A. 2008. The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. *Collection of Biosafety Reviews* 4:142–99.

Andow D.A., Pueppke S.G., Schaafsma A.W., Gassmann A.J., Sappington T.W., Meinke L.J., ... & Porter R.P. 2015. Early detection and mitigation of resistance to Bt maize by western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of economic entomology*, 109(1): 1-12.

ArgenBio, 2014. Evolución de la superficie cultivada con OGM <http://www.argenbio.org/adf/uploads/imagenes_doc/planta_stransgenicas/5_Tabla_de_evolucion_de_sup_sembradeas_con_OGM_en_Arg_en_has.pdf>. Consultada el 15/10/2014.

Bates S.L., Zhao J.Z., Roush R.T. and Shelton A.M. 2005. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. *Nature Biotechnology* 23:57–62.

Bernardi O., Malvestiti G.S., Dourado P.M., Oliveira W.S., Martinelli S., Berger G.U., Head G.P. and Omoto C. 2012. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Management Science* 68:1083–1091.

Bourguet D., Desquilbet M. and Lemarié S. 2005. Regulating insect resistance management: the case of non- Bt corn refuges in the US. *Journal of Environmental Management* 76:210–20.

Brévault T., Heuberger S., Zhang M., Ellers-Kirk C., Ni X., Masson L. and Li X. 2013. Potential shortfall of pyramided transgenic cotton for insect resistance management. *Proceedings of the National Academy of Science* 110:5806–5811.

Caprio M.A., Storer N., Sisterson M.S., Peck S., De Holanda Nunes M. 2008. Assessing the risk of the evolution of resistance to pesticides using spatially complex simulation models. En M.E. Whalon; D. Mota-Sanchez and R.M. Hollingworth (Eds.): *Global pesticide resistance in arthropods*. CAB International, pp. 90-117.

FAO. 2014. AGP Integrated Pest Management. <<http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/ipm/en/>>. Consultada el 9 de septiembre de 2014.

Ferré J., Van Rie J. and Macintosh S.C. 2008. Insecticidal genetically modified crops and insect resistance management (IRM). En J. Romeis; A.M. Shelton and G.G. Kennedy (Eds.): *Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM Programs*. Springer, pp. 41-85.

Heckel D.G. 2012. Insecticide resistance after Silent Spring. *Science* 337:1612-1614.

Hernández-Rodríguez C.S., Hernández-Martínez P., Van Rie J., Escriche B. and Ferré J. 2013. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. *PLoS one*, 8(7):e68164.

Huang F., Andow D. and Buschman L.L. 2011. Success of the high-dose/refuge resistance management strategy after 15 years of Bt crop use in North America. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 140:1-16.

Ives A.R., Glaum P.R., Ziebarth N.L. and Andow D.A. 2011. The evolution of resistance to two-toxin pyramid transgenic crops. *Ecological Applications* 21:503–515.

ISAAA. 2014. Biotech crops adoption in 2013. <<http://www.isaaa.org/resources/biotechinfomercials/brief46-2013/default.asp>> Consultada el 5/05/2014.

Jackson R.E., Marcus M.A., Gould F., Bradley J.R. Jr. and Van Duyn J.W. 2007. Cross-resistance responses of Cry1Ac selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to the *Bacillus thuringiensis* protein Vip3A. *Journal of Economic Entomology* 100:180–186.

Kogan M. 1998. Integrated pest management: Historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology* 43:243-270.

Mitchell P.D. and Hutchison W.D. 2009. Decision making and economic risk in IPM. In Radcliffe, E. B.; W.D. Hutchison and R.E. Cancelado (Eds.): *Integrated pest management*. Cambridge University Press, pp.33-50.

Peshin R. and Zhang W.J. 2014. Integrated Pest Management and Pesticide Use. In Pimentel, D. and R. Peshin (Eds.): *Integrated Pest Management. Pesticide Problems Vol. 3*, pp. 1-46.

Siegfried B.D., Rangasamy M., Wang H., Spencer T., Haridas C.V., Tenhumberg B., Sumerford D.V. and Storer N.P. 2014. Estimating the frequency of Cry1F resistance in field populations of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *Pest Management Science* 70:725–33.

Storer N.P., Thompson G.D. and Head G.P. 2012. Application of pyramided traits against Lepidoptera in insect resistance management for Bt crops. *GM Crops and Food: Biotechnology in Agriculture and the Food Chain* 3:154-162.



kairós

El tiempo de los nativos sustentables

Tabashnik B.E., Gould F. and Carrière Y. 2004. Delaying evolution of insect resistance to transgenic crops by decreasing dominance and heritability. *Journal of Evolutionary Biology* 17:904–12.

Tabashnik B.E., Brévault T. and Carrière Y. 2013. Insect resistance to Bt crops: Lessons from the first billion acres. *Nature Biotechnology* 31:510–21.

Téllez-Rodríguez P., Raymond B., Morán-Bertot I., Rodríguez-Cabrera L., Wright D.J., Borroto C.G., Ayra-Pardo C. 2014. Strong oviposition preference for Bt over non-Bt maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. *BMC Biology* 12:48.

Yang F., Kerns D.L., Head G.P., Leonard B.R., Levy R., et al. 2014. A Challenge for the Seed Mixture Refuge Strategy in Bt Maize: Impact of Cross-Pollination on an Ear-Feeding Pest, Corn Earworm. *PLoS ONE* 9(11): e112962. doi:10.1371/journal.pone.0112962