



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

Tesis para optar por el grado académico de:
Doctor en Ciencias Agrarias

**“Efecto de los maíces *Bt* sobre las
plagas claves, secundarias y los
enemigos naturales.”**

María Cecilia CURIS

Directora: Dra. Isabel BERTOLACCINI

Co-Directora: Dra. Cristina ARREGUI

Esperanza

Argentina

-2014-

RESUMEN

La superficie sembrada con maíces transgénicos aumentó año a año en la Argentina. Este tipo de cultivo posee ventajas y desventajas. Dentro de las limitaciones se menciona la resurgencia de las plagas, debido a que no se aplican insecticidas contra aquellas que son consideradas claves. Un efecto poco estudiado en nuestro medio es la acción que poseen las plantas genéticamente modificadas sobre los enemigos naturales de los insectos que son plagas clave. El presente proyecto tiene como objetivos estudiar y comparar la diversidad de los insectos plagas y benéficos en cultivos de maíz transgénicos y no *Bt* determinar el impacto que estos cultivos podrían tener sobre los artrópodos benéficos y en las plagas no objetivo del control. Se realizaron registros semanales en cultivos comerciales durante cinco campañas agrícolas que comprendieron los años: 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010. Para ello, dentro de la misma explotación comercial, ubicada sobre Ruta Provincial N° 6 (Pujato Norte), departamento Las Colonias (Santa Fe) 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 cm. Se utilizaron tres métodos de muestreos, consistentes en: i) trampas amarillas pegajosas, ii) recuentos visuales y iii) 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. Se determinaron las posibles diferencias del efecto de sus genotipos en ambos agroecosistemas de maíz para determinar el impacto que los maíces *Bt* podrían tener en la entomofauna benéfica y en plagas que no son el objeto del control. Los resultados obtenidos no permitieron inferir diferencias en la diversidad de especies encontradas en los dos tipos de maíces, pero si en la abundancia de algunas de las familias; para el caso de los lepidópteros estos se recolectaron en muy baja proporción en los dos híbridos, pero su abundancia fue marcadamente inferior en los maíces *Bt*. Los áfidos no fueron afectados por el tipo de maíz y parecen ser favorecidos por los híbridos *Bt* ya que su abundancia fue mayor en estos. Para el resto de las especies plagas las diferencias no

fueron marcadas y cuando existieron, la mayor abundancia se dio en los maíces transgénicos, tal es el caso de las especies *Euxestasp.* (Loew), *Diabrotica speciosa* (Germar), principalmente, lo que indicaría la resurgencia de estas plagas secundarias. Los enemigos naturales si bien, no hubo diferencia en la diversidad entre los dos híbridos, su abundancia fue significativamente superior en los maíces convencionales. En los organismos del suelo no existieron diferencias significativas para las especies consideradas plagas como así tampoco para los enemigos naturales. Comparando los cinco años de muestreos existieron diferencias en la campaña 2005-2006 y 2008-2009, aunque las mismas ocurrieron debido a las condiciones climáticas y no al genotipo de maíz. Mediante trabajos de laboratorio se determinaron los efectos de las plagas blanco y no blanco, sobre el depredador *Eriopis connexa* (Germar), quien fue afectado en su ciclo biológico cuando se la alimentó con *Spodoptera frugiperda* (Smith), criada con maíz *Bt*, dieta que también afectó a los parámetros reproductivos, con disminución en la cantidad de huevos, pero no la fertilidad de los mismos.

Palabras clave: maíz, Bt, plagas, enemigos naturales

ABSTRAC

The surface sown with transgenic corn grew year after year in Argentina. This practice has advantages and disadvantages. Within the limitations, it is noticed the pests' resurgence because insecticides are not applied to eliminate the ones considered key. An effect which has been barely studied in our country is the action the genetically modified plants have on the natural enemies of the insects considered key pests. The objectives of this project is to study and compare the variety of pests insects and benefits on the transgenic and conventional corn crops and to determine the impact these crops could have on beneficial arthropods and on the pests that are not target of control. Weekly records have been taken during five agricultural seasons, comprising the 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009, and 2009-2010 campaigns. To that end, inside the same field located on Ruta Provincial N°6 (Pujato Norte), Departamento Las Colonias, Santa Fe, parcels of one hectare each were sown with the hybrids *Bt* (AX 886 MG) expressing the toxin Cry1Ab of *Bacillus thuringiensis* Berliner and the conventional hybrid (892CL), in both cases the distance between rows was 0.70 m and a population density of ___ per hectare. Three sampling methods were used including: I) Yellow sticky traps, II) Visual counting and III) Pitfall traps. To analyze the variety, the following ecological indexes were used: Relative abundance, Relative family variety, Species variety, Dominance rate, Shannon equity index (E_H), and Bray Curtis index. The possible differences due to the genotypes were determined in both agro-ecosystems were determined in order to assess the impact that these may have on the beneficial entomofauna and on the pests that are not target of this control. The results did not enable to infer differences on the variety of species found on the two kinds of corn, but there were differences on the abundance of some of the families. In the case of the Lepidoptera, these were collected in a low proportion on the hybrids but their relative abundance was significantly inferior on the *Bt* corn. The aphids were not affected by the kind of corn and seem to be favored by the *Bt* hybrids, since their abundance was higher on these. For the rest of the pests' species, the differences were not significant, and when they occurred, the higher amount was present on the transgenic corns; such is the case of the *Euxetasp* (Loew), *Diabrotica speciosa* (Germar) species mainly, which would indicate the resurgence of these secondary pests.

Regarding the natural enemies, while there were no differences on the variety between the hybrids, their abundance was noticeably superior on the conventional corns. There were no marked differences on the ground organisms neither for the pests nor for the natural enemies. Comparing the five sampling years, there were differences on the 2005-2006 and the 2008-2009 campaigns, even though these were due to the weather conditions and not to the corn genotype. It was determined, through laboratory analysis, the effect of the target and not target pests on the predator *Eriopis connexa* (Germar), this predator had his cycle affected when fed with *Spodoptera frugiperda*(Smith), raised with *Bt* corn, this feeding also affected the reproductive parameters diminishing the eggs amount, but not their fertility.

Key words: *Bt* corn, pests, natural enemies.

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRAC

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE CUADROS

INTRODUCCIÓN GENERAL

Introducción General.....	1
Los cultivos transgénicos en la Argentina.....	2
El maíz <i>Bt</i>	3
Expresión de la toxina del <i>Bacillus thuringiensis</i>	5
Hipótesis.....	8
Objetivos.....	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
Bibliografía.....	9

CAPÍTULO 1:

Incidencia de los áfidos plagas y de sus depredadores en sistemas de cultivo de maíz <i>Bt</i> y no <i>Bt</i>.....	14
Resumen.....	14
Introducción.....	15
Objetivo.....	19
Materiales y Métodos.....	19
Recuento de artrópodos.....	20
Determinación de los áfidos.....	21
Determinación de enemigos naturales.....	21
Depredadores.....	21
Parasitoides.....	22
Determinación de índices ecológicos.....	23
Análisis de los datos.....	25
Resultados.....	25
Incidencia de áfidos.....	25
Incidencia de los enemigos naturales.....	28
Depredadores.....	28
Parasitoides.....	30
Determinación de índices ecológicos para los enemigos naturales.....	30
Análisis de las poblaciones según las campañas agrícolas.....	31
Discusión.....	35

Conclusión.....	37
Bibliografía.....	38
CAPÍTULO 2:	
Incidencia de las plagas del orden Lepidoptera y sus parasitoides, en maíces convencionales y en maíces genéticamente mejorados.....	48
Resumen.....	48
Introducción.....	49
Objetivo.....	52
Materiales y Métodos.....	52
Análisis de los datos.....	54
Resultados.....	54
Incidencia de Lepidoptera.....	54
Incidencia de parasitoides de Lepidoptera.....	59
Discusión.....	61
Conclusión.....	63
Bibliografía.....	64
CAPÍTULO 3:	
Biodiversidad de artrópodos benéficos de suelo, de las familias Carabidae y Araneae, en maíces Bt y convencionales.....	71
Resumen.....	71
Introducción.....	72
Objetivo.....	74
Materiales y Métodos.....	74
Análisis de los datos.....	75
Resultados.....	77
Discusión.....	84
Conclusión.....	86
Bibliografía.....	87
CAPÍTULO 4:	
Incidencia los maíces Bt en la diversidad de artrópodos y en la aparición de plagas resurgentes.....	95
Resumen.....	95
Introducción.....	96
Objetivo.....	97
Materiales y Métodos.....	97
Resultados.....	103
Discusión.....	113
Conclusión.....	114
Bibliografía.....	115
CAPÍTULO 5:	
Influencia de presas criadas en maíces Bt sobre parámetros biológicos de Eriopisconnexa (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE).....	118
Resumen.....	118
Introducción.....	119
Descripción del problema.....	119
Descripción de las plagas y de <i>Eriopisconnexa</i>	120
<i>Spodopterafrugiperda</i> : “Gusano cogollero”.....	120
<i>Sipha maydis</i> “ pulgón negro de los cereales”.....	125
<i>Eriopis connexa</i> : “Vaquita depredadora de pulgones”.....	126
Objetivo.....	129

Materiales y Métodos.....	130
Preparación del material empleado en los ensayos.....	130
Material vegetal (maíces <i>Bt</i> y convencionales).....	130
Condiciones de la críade insectos.....	130
Recolección de polen.....	133
Influencia de las presas en el ciclo de <i>E. connexa</i>	133
Influencia en los parámetros reproductivos de <i>E. connexa</i>	134
Análisis de los datos.....	135
Resultados.....	135
Influencia de las presas en el ciclo de <i>E. connexa</i>	135
Influencia en los parámetros reproductivos de <i>E. connexa</i>	138
Discusión.....	139
Conclusión.....	140
Bibliografía.....	141
Conclusiones generales.....	147

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Evolución de la superficie sembrada de maíces GM con tolerancia <i>Bt</i> y a herbicidas (TH), y con características apiladas (<i>Bt</i> x TH), en Argentina.	3
Figura 2	Acción de la toxina <i>Bt</i> en el insecto.	7
Figura 1.1	Disposición de las trampas pegajosas en los lotes de maíz <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> , indicando los metros que se dejaron en los bordes de los mismos.	21
Figura 1.2	Abundancia total (\pm D.E) de áfidos recolectados, por campaña agrícola, en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	25
Figura 1.3	Abundancia total (\pm D.E), por especies de áfidos, en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> observada en todas las campañas agrícolas.	26
Figura 1.4	Curva poblacional de las especies <i>R. maidis</i> , <i>S. maydis</i> y <i>S. avenae</i> . Valores promedios de las campañas agrícolas.	27
Figura 1.5	Abundancia (promedio por familia) para cada año de muestreos en los maíces no <i>Bt</i> (A), y maíces <i>Bt</i> (B).	33
Figura 1.6	Comparación de la abundancia de Aphididae y la abundancia total de los enemigos naturales (\pm D. E.), en los maíces no <i>Bt</i> (A) y <i>Bt</i> (B).	34
Figura 2.1	Abundancia de larvas de Lepidoptera (media \pm DE) en los híbridos no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	55
Figura 2.2	Abundancia total por estado inmaduro de <i>D. saccharalis</i> y <i>S. frugiperda</i> , en los híbridos <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> en los cinco años de muestreos.	57
Figura 2.3	Número de larvas (\pm DE) de <i>S. frugiperda</i> por parcela durante el ciclo de los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	58
Figura 2.4	Daño de <i>S. frugiperda</i> grado 1 y 2 en hojas de plantas de maíces con genotipo <i>Bt</i> .	58
Figura 2.5	Daño de <i>S. frugiperda</i> grado 3, 4 y 5 en plantas de maíces con genotipo no <i>Bt</i> .	59
Figura 2.6	Abundancia (\pm DE.) de parasitoides adultos en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	60
Figura 3.1	Aspectos que presentaron las trampas de caída (“pitfall”), utilizadas en el trabajo.	75

Figura 3.2	Abundancia media (\pm DE) de artrópodos benéficos del suelo, en los maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	78
Figura 3.3	Proporción de las familias de artrópodos enemigos naturales recolectados con trampas de caída.	79
Figura 3.4	Abundancia promedio de arañas (\pm DE) durante el desarrollo fenológico del cultivo de maíz, en los híbridos convencionales y transgénicos.	87
Figura 3.5	Comparación de la abundancia total (\pm DE) de arañas y carábidos capturados con trampas de caída durante el ciclo del maíz.	87
Figura 4.1	Total de los individuos recolectados, por familia, durante las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010.	10 8
Figura 4.2	Distribución proporcional de la abundancia relativa de las familias de insectos fitófagos capturadas con trampas pegajosas.	10 9
Figura 4.3	Distribución proporcional de la abundancia relativa de insectos fitófagos capturados según el método de conteo visual.	11 0
Figura 4.4	Distribución porcentual de la abundancia relativa de familias de artrópodos fitófagos capturados en trampas de caída.	11 1
Figura 4.5	Magnitudes calculadas del Índice de Dominancia de Simpson para las principales especies presentes en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	11 5
Figura 4.6	Abundancia de artrópodos recolectados durante los cinco años de muestreos, en los maíces no <i>Bt</i> (A) y <i>Bt</i> (B).	11 6
Figura 5.1	Oviposición característica de <i>S. frugiperda</i> constituida por grupos de entre 100 y 150 huevos.	12 5
Figura 5.2	Aspecto que presentan las larvas recién nacidas de <i>S. frugiperda</i> .	12 5
Figura 5.3	Aspecto que presentan la cabeza de una larva de <i>S. frugiperda</i> correspondiente a los últimos estadios.	12 6
Figura 5.4	(A y B) Estado de la larva al comienzo del estado de prepupa, C) Estado de pupa de <i>S. frugiperda</i> .	12 6
Figura 5.5	Adultos de <i>S. frugiperda</i> .	12 7
Figura 5.6	Aspecto del daño foliar producido por las larvas de primer estadio. B) Aspecto del daño foliar de larvas de tercer estadio. C)	12 8
Figura 5.7	Aspecto que presentan las plantas de maíz con daño en cogollo por las larvas de <i>S. frugiperda</i> .	12 8

Figura 5.8	Aspecto característico que presenta un adulto y ninfas de <i>Siphamaydis</i> .	12 9
Figura 5.9	Aspecto de las colonias de <i>Sipha maydis</i> en plántulas de maíz.	13 0
Figura 5.10	Aspecto de las oviposición y las larvas recién nacidas de <i>E. connexa</i> .	13 1
Figura 5.11	Apariencia de las larva de último estadio de <i>E. connexa</i> .	13 1
Figura 5.12	Aspecto de la pupa y exuvia de <i>E. connexa</i> .	13 2
Figura 5.13	Aspecto de la hembra de <i>E. connexa</i> .	13 3
Figura 5.14	Disposición y aspecto de las bandejas con plántulas de maíz, para la cría de insectos.	13 4
Figura 5.15	Disposición de los estantes de cámara de cría y termohidrógrafo digital.	13 5
Figura 5.16	Recipientes de cría de <i>Eriopsis connexa</i> alimentadas con áfidos.	13 5
Figura 5.17	Pasos seguidos para la cría en laboratorio de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	13 6
Figura 5.18	Vista de la metodología de cría de <i>Sipha maydis</i> , en bandejas de maíz.	13 7
Figura 5.19	Vista de los ensayos de laboratorio, con los cuatro tratamientos realizados.	13 8
Figura 5.20	Frasco utilizados para la oviposición de <i>E. connexa</i> .	13 8
Figura 5.21	Peso medio de los adultos (mg.) (\pm DE) de <i>E. connexa</i> alimentados con ninfas de <i>S. maydis</i> y larvas de <i>S. frugiperda</i> , criados sobre maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	14 1

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1.	Fechas de siembra de los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> , en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.	19
Cuadro 1.2	Abundancia (\pm D.E.) de depredadores presentes en los maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> , durante los cinco años de muestreos	29
Cuadro 1.3	Abundancia por familia, en observaciones directas y con trampas pegajosas, en los cultivos no <i>Bt</i> (A) y <i>Bt</i> (B).	30
Cuadro 1.4	Abundancia relativa de las principales especies y familias de artrópodos benéficos, en los maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	31
Cuadro 1.5	Precipitaciones mensuales (mm) en las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2009-2010; durante el ciclo del maíz.	32
Cuadro 2.1	Fechas de siembra de los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> , en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.	52
Cuadro 2.2	Abundancia promedio (\pm D.E.) de los distintos estados de desarrollo de <i>D. saccharalis</i> y <i>S. frugiperda</i> , en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> , durante las campañas agrícolas 2005-2006, 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009 y 2009-2010.	56
Cuadro 3.1	Abundancia de artrópodos benéficos de suelo en maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	77
Cuadro 3.2	Abundancia, índice de Diversidad específica (H'), índice de Equitatividad ($E_{H'}$) de los artrópodos benéficos en el maíz <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	79
Cuadro 3.3	Abundancia (media mensual \pm desvío estándar) de géneros de carábidos presentes en el maíz.	81
Cuadro 3.4	Abundancia (media mensual \pm desvío estándar) del total de carábidos, en los híbridos de maíz no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	81
Cuadro 4.1	Fechas de siembra de los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> , en las campañas agrícolas 2005-2006; 2006-2007; 2007-2008; 2008-2009 y 2009-2010.	102
Cuadro 4.2	Artrópodos herbívoros, agrupados por orden y familia, según tipo de monitoreo: visual, trampas amarillas y trampas de caída.	109

Cuadro 4.3	Abundancia y abundancia relativa de las especies de los principales artrópodos potencialmente plaga, agrupados por familia, en los maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	112
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.	113
Cuadro 4.5	Abundancia, Riqueza específica (<i>S</i>), Índice de diversidad (H') e índice de equidad (EH') de Shannon- Wiener en los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	114
Cuadro 5.1	Duración, en días, de los estadios larvales, del estado pupal y del total del ciclo total de <i>E. connexa</i> (media \pm DE), alimentadas con <i>S. maydis</i> y <i>S. frugiperda</i> , criados sobre maíz <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	140
Cuadro 5.2	Fecundidad de <i>E. connexa</i> (media \pm DE), alimentada con ninfas de <i>S. maydis</i> y larvas de <i>S. frugiperda</i> , criados sobre maíces no <i>Bt</i> y <i>Bt</i> .	142
Cuadro 5.3	Fertilidad media (\pm DE) de <i>E. connexa</i> alimentada con <i>S. maydis</i> y <i>S. frugiparda</i> criadas sobre los maíces <i>Bt</i> y no <i>Bt</i> .	143