

Utilización de refugios para el Barrenador del Tallo en maíces Bt



MANEJO DE RESISTENCIA DE INSECTOS



CAMARA URUGUAYA
DE SEMILLAS

Av. Gral. Rondeau 1908 esc. 3 - 11.800 - Montevideo - Uruguay
Tel/Fax: (598 2) 929 0407 - info@cus.org.uy - www.cus.org.uy

Introducción

El Barrenador del Tallo, *Diatraea saccharalis*, es una de las plagas que ha cobrado relevancia en la producción de maíz. Las pérdidas provocadas por este insecto dependiendo del año y del nivel de ataque se estiman en un 7% por daño directo y un 20% por quiebre de plantas, afectación del llenado de granos o facilitando el ingreso de patógenos.

El desarrollo de los maíces Bt brinda mayor facilidad de control contra esta plaga ya que la planta produce una proteína (denominada Cry 1Ab) sintetizada gracias a la introducción de un gen proveniente del *Bacillus thuringiensis* (Bt), una bacteria del suelo reconocida por su capacidad de sintetizar proteínas con acción insecticida **específica** sobre larvas de algunas especies de insectos del Orden *Lepidoptera* (mariposas).

En el proceso de alimentación, las enzimas producidas por las larvas atacan la proteína Cry en sitios específicos provocando la liberación de una toxina que se fija a la pared del aparato digestivo y destruye las células de su parte interna, lo que provoca la muerte de los individuos.

Los receptores necesarios para que se produzca esta unión de la toxina a la pared del tracto digestivo solo están presentes en este tipo de insectos, y por lo tanto no afecta a otros integrantes de la entomofauna del cultivo, ni tampoco en otro tipo de organismos.

Este modo de acción determina que los maíces Bt ejerzan una alta presión de selección en las poblaciones de insectos susceptibles (tal como sucede con la aplicación reiterada de altas concentraciones de insecticidas) y si no se toman medidas de manejo puede suceder que surjan individuos resistentes a los efectos de la proteína y puedan aumentar su proporción dando lugar a verdaderas poblaciones resistentes, con lo cual la tecnología perdería la eficacia mencionada anteriormente.

La manera de prevenir la aparición de poblaciones resistentes es precisamente favoreciendo la existencia de individuos susceptibles que permitan mantener en baja frecuencia los genes de resistencia. Estas poblaciones susceptibles tienen necesariamente que sobrevivir en cultivos de maíz **NO Bt**, que se conocen como “refugios”.

En Uruguay, de acuerdo a las resoluciones ministeriales que permitieron la liberación de los eventos MON 810 y BT 11 y la resolución posterior de la Dirección Nacional de Medio Ambiente, es obligatoria la instalación de cultivos “refugio” como parte del Programa de Manejo de Resistencia Específica para Insectos Lepidópteros del Maíz, por parte de los productores que siembran maíces con los mencionados eventos.

En el marco actual en el que se desarrolla la agricultura, la incorporación y el mantenimiento de la tecnología a través de su correcto uso, es fundamental para mantener la competitividad del agro a nivel mundial.

Diatraea saccharalis

En nuestro país *Diatraea saccharalis* puede presentar de tres a cuatro generaciones por año. Los adultos oviponen en el envés o en la parte superior de las hojas y al nacer, las larvas se alimentan de las hojas de las plantas jóvenes o atacan el cogollo observándose pequeños orificios. En los casos de ataque de plantas jóvenes, las pérdidas pueden ser totales.

La incidencia de la segunda generación, durante los meses de Diciembre y Enero, puede ser muy alta, dependiendo de los años. Las larvas penetran en la zona próxima a las axilas de las hojas, entre las vainas y el tallo, alimentándose de la vaina y de la base de los entrenudos, formando galerías en los tallos, provocando el desprendimiento de hojas y el fácil quebrado de tallos ante intensas lluvias o vientos fuertes.

Aún en los casos en los cuales no existe quebrado, las perforaciones en la caña afectan la circulación de fotosintatos, agua y nutrientes, afectando el llenado de granos y en consecuencia el rendimiento. Por otra parte, los daños producidos en los tejidos superficiales facilitan la entrada de patógenos.

Durante la tercera generación, en los meses de Febrero, Marzo y Abril, los daños son generalizados, atacando tanto el tallo como la espiga.

La última generación pasa el invierno como larva invernante bajo el nivel del suelo o protegida en la base de las plantas atacadas. Este comportamiento ha incrementado su incidencia debido al aumento del área de “siembra directa”.

Maíz Bt

Bacillus thuringiensis (Bt) es una bacteria del suelo de amplia difusión a nivel mundial con gran capacidad de esporulación.

Al momento de la esporulación produce un grupo de proteínas denominadas Cry (por su carácter cristalino) que tienen la particularidad de liberar una toxina que se fija al tracto digestivo de las larvas susceptibles y destruye las células provocando la muerte del individuo. Se han detectado más de 60 tipos distintos de estas proteínas en las numerosas subespecies existentes de la bacteria.

El gen que codifica para la síntesis de la proteína Cry 1Ab fue introducido mediante técnicas de ingeniería genética en el genoma del maíz, dando lugar a lo que se conoce como *Maíz Bt*, y posibilitando que las plantas produzcan esta proteína de efecto insecticida, la que entra en acción en forma inmediata cuando las larvas comienzan a alimentarse.

La acción insecticida de esta proteína es altamente selectiva debido a que el control lo efectúa solo sobre un reducido número de especies dentro del Orden de los Lepidópteros.

Los híbridos de maíz Bt fueron mejorados mediante la introducción de un gen proveniente de una bacteria del suelo, *Bacillus thuringiensis*, utilizada tradicionalmente como insecticida orgánico por su producción de proteínas con capacidad insecticida selectiva sobre algunas especies de insectos lepidópteros.

Estas especies de Lepidópteros son susceptibles a la proteína debido a un sitio de unión específico en sus aparatos digestivos que la «reconocen» y le permiten ejercer su toxicidad.

En el medio alcalino del aparato digestivo de la larva, la proteína Cry (pro-toxina) es activada por las enzimas liberando su parte tóxica, la cual se adhiere a las membranas de las células de la pared interna del aparato digestivo. La toxina altera el equilibrio osmótico celular causando la lisis de estas células, lo que provoca que en pocos minutos la actividad digestiva se paralice.

Es por eso que las larvas deben alimentarse de hojas de maíces Bt para que se produzca el efecto descrito, aunque el daño que provocan en el cultivo es mínimo ya que a pesar de que la muerte se produce luego de algunos días, las larvas dejan de alimentarse casi inmediatamente.

Sólo unas pocas especies de insectos poseen en su aparato digestivo las condiciones para que la proteína pueda ejercer su toxicidad, por lo tanto el resto de los organismos la digerirán del mismo modo que digieren cualquier otra proteína.

Efectos del maíz Bt sobre insectos benéficos

Como se explicó anteriormente, para que se manifieste la toxicidad de la proteína Bt ésta debe ser activada en el aparato digestivo del insecto, liberando la endotoxina, la cual se adhiere a un sitio específico de la pared del tracto digestivo y destruye sus células. Este sitio de unión se encuentra presente sólo en algunas especies de Lepidópteros lo que da una altísima especificidad a la acción tóxica del maíz Bt. Por esta razón los cultivos Bt no poseen efectos tóxicos sobre ningún otro organismo, entre los que se pueden contar enemigos naturales depredadores, parásitos o parasitoides que actúan sobre otras plagas del cultivo.

Diversos estudios realizados sobre cultivos de maíces Bt y no Bt, evidenciaron que no existen diferencias en el número total de insectos presentes, ni en grupos específicos como coleópteros, áfidos y abejas. Contrariamente, el tratamiento con insecticidas convencionales tuvo un fuerte impacto disminuyendo el número total de insectos en el cultivo respecto del testigo.

Debido a la toxicidad selectiva para algunos Lepidópteros, el maíz Bt colaborará en la preservación de poblaciones de insectos benéficos que pueden verse amenazados por el uso de insecticidas no selectivos.

Necesidad de un plan de manejo de resistencia de Insectos (MRI)

Las poblaciones naturales de *Diatraea saccharalis* poseen variabilidad natural en cuanto a la susceptibilidad a la acción de la proteína Cry 1Ab. Sin embargo la gran mayoría de los individuos son susceptibles ya que el carácter de resistencia está presente en muy baja frecuencia en las poblaciones y además es recesivo, por lo que un individuo necesita poseer los dos alelos de resistencia para manifestarla. Otras combinaciones de alelos manifiestan susceptibilidad, por lo cual el mantenimiento de la baja frecuencia del gen resistente es fundamental para que la tecnología continúe siendo efectiva.

Al aumentar la superficie sembrada con maíz Bt y debido a la alta expresión de la proteína Cry 1Ab en sus tejidos, también aumentará la población de *Diatraea saccharalis* expuesta a la misma. Al igual que lo que sucede cuando una población de insectos es sometida a una alta presión de control debido a la aplicación reiterada de altas dosis de insecticidas, una pequeña fracción de los individuos más resistentes puede sobrevivir y al cruzarse entre ellos puede aumentar la frecuencia del alelo de resistencia, generando con el tiempo una población de individuos resistentes.

El Programa de Manejo de Resistencia de Insectos (MRI) tiene como objetivo disminuir la probabilidad de aparición de esta resistencia en las poblaciones de *Diatraea saccharalis*, y por lo tanto mantener la eficacia de la tecnología.

¿En qué consiste el Manejo de Resistencia de Insectos?

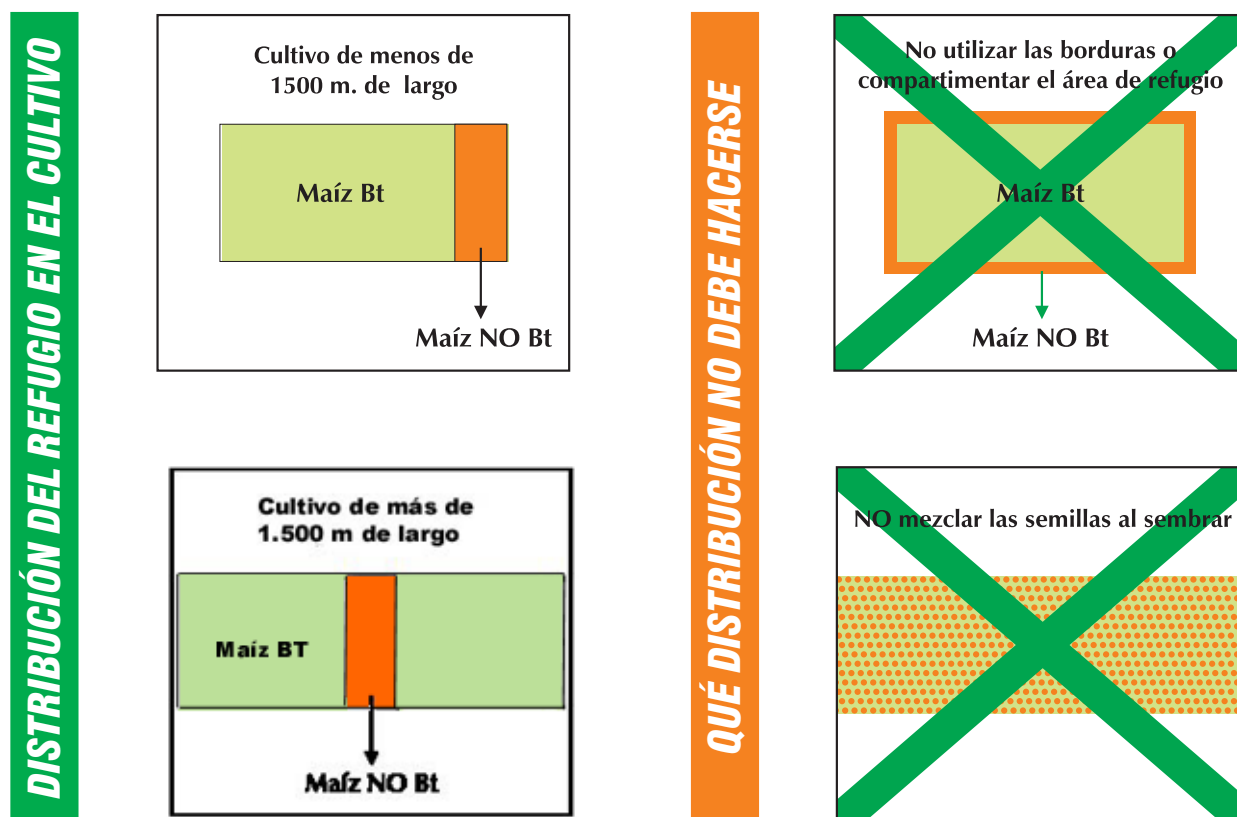
El MRI está fundamentado en dos principios básicos: una alta dosis de la proteína que permita un efectivo control en el cultivo Bt y la utilización de refugios que permitan mantener baja la frecuencia del alelo de resistencia y por lo tanto disminuya la probabilidad de aparición de individuos doble recesivos resistentes.

El maíz Bt produce niveles muy altos de proteína Cry lo que elimina las larvas susceptibles, tanto homocigotas (ss) como heterocigotas (sr) y permite sólo la supervivencia de una pequeña proporción de larvas resistentes doble recesivas (rr). Por esta razón es necesario asegurar que sobreviva al menos una población de individuos susceptibles, los que a través de su cruzamiento con los potenciales sobrevivientes del cultivo Bt, restablezcan la frecuencia normal de individuos susceptibles/ resistentes.

Los refugios consisten en una porción del cultivo sembrado con maíz no Bt que tienen como objetivo permitir la supervivencia de esa población susceptible, ya que no están expuestas a la acción de la proteína Cry.

Conceptos a tener en cuenta para la siembra de refugios

- Los refugios deben ser sembrados con un maíz no Bt del mismo ciclo y en la misma fecha de siembra que el cultivo Bt.
- Al menos el 10% del área total del cultivo debe destinarse al refugio.
- Los refugios deben sembrarse en bloque en **uno** de los márgenes del cultivo.
- En chacras muy grandes el refugio debe sembrarse en un bloque **central** para permitir que los adultos susceptibles sobrevuelen todo el cultivo Bt. (chacras de más de 1.500 m de lado)
- El refugio **no es una “trampa”** por lo cual su utilización no implica el sacrificio de esa porción del cultivo. Las hembras adultas no distinguen plantas Bt y no Bt al oviponer y por lo tanto lo hacen en la misma proporción en ambos. Las larvas nacidas en el cultivo Bt no migran hacia el refugio sino que mueren al comenzar a alimentarse, esto implica que el nivel de daño observado en los refugios dependerá del grado de ataque producido en la zona ese año.
- No se debe realizar ninguna aplicación de insecticidas contra *Diatraea saccharalis* sobre el refugio, ya que el objetivo de éstos es precisamente posibilitar la supervivencia de una suficiente cantidad de insectos susceptibles como para evitar la generación de resistencia.
- El área de refugio debe quedar claramente marcada en forma permanente en la chacra de manera que facilite la delimitación del mismo.
- Es conveniente sembrar primero el “refugio” y luego a continuación el cultivo Bt.



Aspectos normativos y fiscalización

- La siembra del área de refugios es obligatoria y su cumplimiento será fiscalizado por funcionarios del Instituto Nacional de Semillas (INASE) y la Dirección Nacional de Medio Ambiente.
- Los vendedores de semillas de maíz Bt deben completar un **Formulario de Registro** de transacción de semillas de maíz Bt cada vez que se venda, entregue o reciba por cualquier concepto semillas de maíz Bt. En el caso de devoluciones de semilla sobrante se deberá completar un nuevo **Formulario de Registro**.
- Este **Formulario de Registro** debe ser enviado por la empresa proveedora de la semilla a las oficinas de la Cámara Uruguaya de Semillas o de la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) en un plazo de 5 días a partir de la fecha de transacción.
- Las empresas vendedoras requerirán a los productores la firma del **Compromiso de Siembra de Refugios**, documento que será enviado a las oficinas de la Cámara Uruguaya de Semillas.
- Al momento de sembrar un cultivo Bt, los productores deben completar el **Formulario de Declaración Jurada** suministrado por la empresa vendedora de la semilla y enviarlo a las oficinas de la Cámara Uruguaya de Semillas o de la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) en un plazo de 10 días a partir de la fecha de siembra.
- Ambos son formularios oficiales requeridos por la Dirección Nacional de Medio Ambiente del Ministerio de Vivienda y Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.