



Manejo de la Resistencia y Control Biológico Natural de *Rachiplusia nu* en soja RR2 (Bt)



Diego Martiarena¹

Dora Carmona¹

Rafael López²

María Celia Tulli¹

¹ Unidad Integrada Balcarce, EEA INTA-FCA UNMdP

² Monsanto Argentina

El cultivo de soja es afectado por diversos insectos plaga en todos sus estados de desarrollo, entre los que se destaca la "isoca medidora", *Rachiplusia nu* (Lepidoptera), considerada defoliadora principal del cultivo en el SE bonaerense, dados los daños económicamente significativos que ocasiona. En los agroecosistemas, la diversidad biológica provee de insectos zoófagos (parasitoides y predadores), que representan un servicio ecosistémico en el control biológico natural de la isoca medidora. Dichos insectos son considerados enemigos naturales dado que se alimentan de la plaga reduciendo sus poblaciones, en algunos casos, a proporciones que no causan daño económico en el cultivo. Entre otras estrategias de control de especies defoladoras generadas por el hombre, se encuentra el desarrollo de las variedades de soja genéticamente modificadas, RR2 Bt, que expresan toxinas de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) y controlan larvas de lepidópteros, entre ellas *Rachiplusia nu*.

Si bien con la adopción de la Soja RR2 Bt existen beneficios ecológicos como la reducción en el uso de insecticidas, se podría pensar que existe el riesgo potencial de efectos negativos de dicha soja sobre los enemigos naturales; esto es, por alimentarse de isocas que han ingerido la toxina con el tejido vegetal y/o como consecuencia de la disminución poblacional de isocas como fuente de alimentación de dichos controladores biológicos. Sin embargo, las investigaciones llevadas a cabo en el Grupo de Zoología Agrícola y Manejo de plagas de la UI EEA

Balcarce, INTA-FCA, UNMdP, evidencian que en agroecosistemas con manejo adecuado de la Soja RR2 Bt, es posible la integración del control biológico natural (por predadores y parasitoides) y el manejo de la resistencia de la isoca medidora, *Rachiplusia nu*.

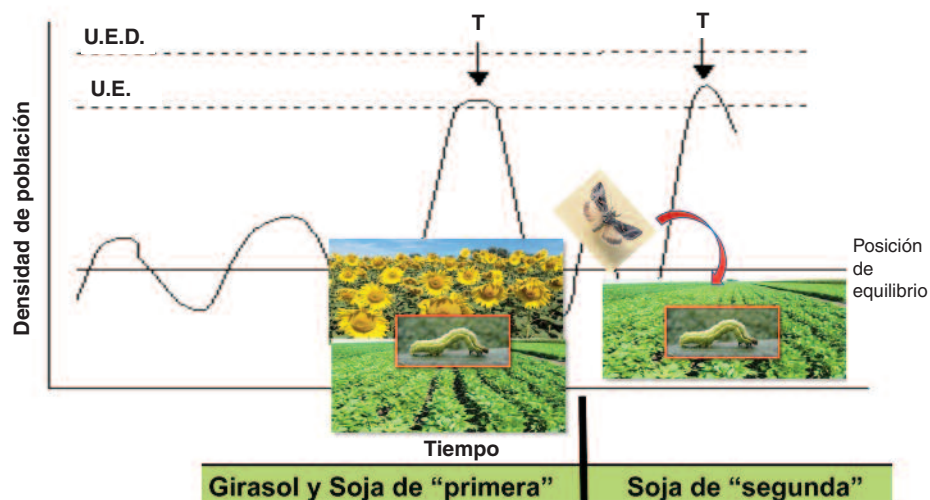
¿Cómo incide la isoca medidora en el cultivo de soja?

Rachiplusia nu es una especie polífaga, que causa daños en cultivos de soja, girasol, maíz, trigo y alfalfa. También puede dañar cultivos hortícolas, como poroto, tomate, lechuga, entre otros. En el sudeste bonaerense,

fue citada como plaga principal del cultivo de girasol en la década del '80, y con la expansión del cultivo de soja en la región también fue registrada alimentándose de su follaje a partir de fines de los '80 y principios de los '90. A mediados de los '90, la implementación de la siembra directa, la utilización de cultivares de soja de ciclo corto indeterminados y la reducción de los espaciamientos entre hileras, produjeron cambios en el comportamiento de la plaga, aumentando sus densidades poblacionales.

Si bien *Rachiplusia nu* fue y sigue siendo considerada plaga principal del cultivo de girasol en el SE bonaerense, afecta simultáneamente al cultivo de soja de primera fecha de siembra. No

Figura 1 | *Rachiplusia nu*, defoliadora principal cultivos de girasol y soja en el SE bonaerense



obstante, los mayores daños se han registrado en soja de segunda siembra, que es afectada por una mayor densidad poblacional de la plaga por condiciones favorables en verano (climáticas y de alimento) y por la población de adultos proveniente del cultivo de girasol que finaliza su ciclo y de la soja de primera fecha de siembra (Figura 1).

Por su recurrente aparición y daños de significancia económica, en el año 2009 se reportó a *Rachiplusia nu* como la especie defoliadora principal en cultivos de soja del sudeste bonaerense. Esta especie presenta un desarrollo holometábolo, con estados de huevo, larva, pupa, prepupa y adulto de hábito nocturno. A simple vista las “polillas” presentan un primer par de alas de color castaño oscuro con una mancha de color plateado en el tercio inferior; y un segundo par de color ocre. Este adulto coloca entre 300 a 500 huevos aisladamente y en el envés de las hojas. Al eclosionar las larvas comienzan a desarrollarse y en 20-25 días alcanzan su tamaño máximo (35 mm); La cabeza es de color castaño y son de color verde claro con líneas longitudinales blancas; presenta tres pares de patas verdaderas negras y tres pares de falsas patas en la parte posterior del cuerpo. Para desplazarse la isoca debe arquear su cuerpo, acercando la parte posterior a la parte anterior, como “midiendo” la superficie (Figura 1). Las larvas de los primeros estadios producen un rído de las hojas, consumiendo epidermis superior; y las de los últimos estadios se caracterizan por consumir la epidermis y el parénquima, dejando intactas las nervaduras. Los estadios larvales avanzados son los que provocan la mayor parte del daño, ya que consumen el 80-85% del total de follaje ingerido durante todo el desarrollo larval. Se ha determinado que

una larva de *R. nu* consume durante el periodo larval entre 100 y 110 cm² de hojas de soja, con la consecuente reducción del área foliar, menor intercepción de luz, menor capacidad fotosintética, pérdida de material almacenado en hoja y acortamiento del periodo de llenado de granos.

Enemigos naturales: los aliados en el control de la isoca medidora

La fluctuación poblacional de *R. nu* puede estar determinada en parte por factores bióticos, entre los que encontramos enemigos naturales como parasitoides y predadores.

Los **parasitoides** son insectos generalmente de ciclo completo (huevo larva pupa y adulto), cuyas larvas (huésped) se desarrollan alimentándose en el interior o sobre las larvas de *Rachiplusia nu* (su hospedante) y terminan matándola. Presentan alta especificidad pudiendo parasitar una sola especie o un número reducido. En la generalidad de los casos la hembra adulta al encontrar su hospedante deposita uno o varios huevos dentro (endoparasitoides) o sobre la superficie (ectoparasitoides) de los mismos; eclosionan las larvas y una vez que terminan su desarrollo, empupan formando un cocon, para dar lugar al parasitoide adulto que es de vida libre y se alimenta de polen y néctar.

Los **predadores**, a diferencia de los parasitoides se caracterizan por ser especies cazadoras que necesitan consumir un cierto número de individuos presa para sobrevivir; su morfología está adaptada para capturar y matar a sus presas; son generalmente de mayor tamaño que las mismas, no

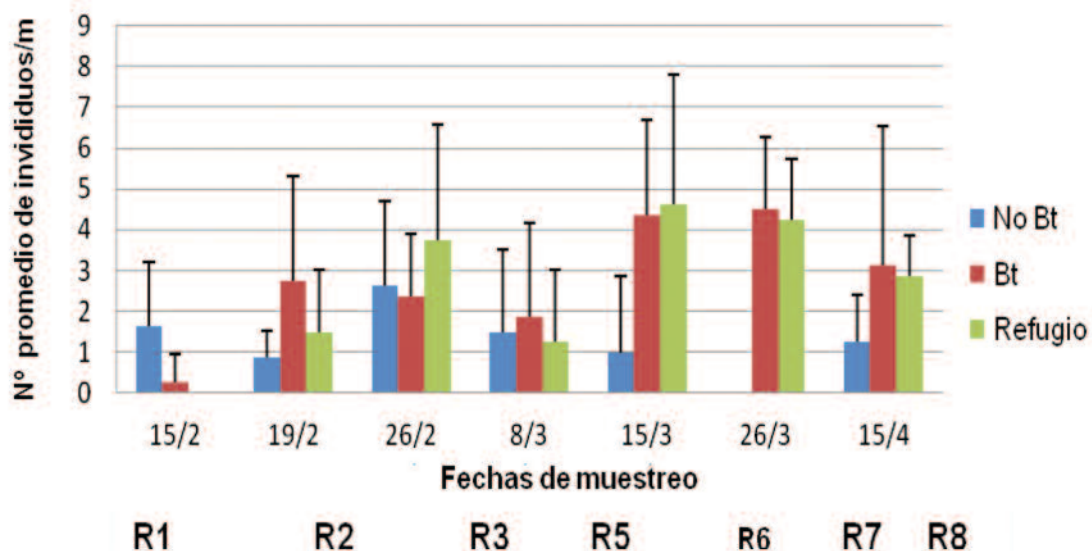
muestran preferencia por alimento (son polípagos o generalistas).

Manejo de la resistencia de la plaga: Soja RR2Bt

El paquete tecnológico de la soja RR2 Bt trae incorporado la implementación del “refugio”, que es un porcentaje del área sembrada con una variedad de soja que no contiene el gen Bt. Esta franja con soja No Bt permite que los insectos susceptibles puedan reproducirse y mantener una población, capaz de diluir la probabilidad de generación de insectos “resistentes” sobrevivientes. Es decir, el establecimiento de un área refugio No Bt en una parte del agroecosistema, contiguo a la soja Bt, tiene como objetivo la reproducción y desarrollo de insectos no expuestos a la proteína Cry1Ac, disminuyendo la probabilidad de establecimiento de insectos resistentes que puedan sobrevivir y desarrollarse en el cultivo Bt.

La liberación comercial de soja RR2 Bt (INTACTA RR2 PRO™) en el año 2013, incluyó un manejo del “refugio” (soja No Bt, RR1) con los monitoreos con Paño Vertical y umbrales de daño de la isoca medidora para los diferentes estados fenológicos de las plantas, desarrollado por el grupo de investigación en manejo de plagas de la EEA Oliveros, INTA. El tamaño umbral de la larva considerado es de 15 mm de longitud del cuerpo. El objeto del uso de dicha herramienta para tomar decisiones en el marco de un Manejo Integrado de la Plaga, es determinar la oportunidad de aplicación de insecticidas, en casos de aumentos poblacionales de la isoca medidora que pudiera producir la defoliación de todo el refugio.

Figura 2 | Densidad poblacional de predadores en sojas No Bt, Bt y refugios, en función de los estados de fenológicos del cultivo de soja.



Integrando estrategias de manejo

En la Unidad Integrada EEA Balcarce se han llevado a cabo cultivos experimentales de soja RR2 Bt con sus correspondientes refugios, con el objetivo de determinar si los refugios (No Bt), además del manejo de resistencia, permiten el establecimiento y conservación de enemigos naturales de *Rachiplusia nu* y su Control Biológico Natural.

En los diferentes años de estudio, se establecieron parcelas de aproximadamente 1.680 m² cada una (16,8 m x 100 m), que fueron sembradas con soja genéticamente modificada (Bt) (INTACTA RR2 PRO™) en el área central, y en los laterales se sembraron franjas de 2 m de ancho con soja RR1 (No Bt), como “refugios”. Como cultivo “testigo” o de comparación con la soja genéticamente modificada, se realizaron relevamientos de insectos en parcelas con soja No Bt. Se llevaron a cabo muestreos semanales mediante el uso del Paño Vertical, diferenciando los resultados en tres sistemas: soja Bt, “refugios” y soja No Bt. El material colectado fue analizado en el Laboratorio de Investigación y Servicios de Zoología Agrícola (LISEZA) de la UIB.

En los diferentes años de estudio se registraron larvas de *Rachiplusia nu* en los refugios y en la soja No Bt desde estados vegetativos del cultivo, con incrementos en la abundancia

poblacional conforme al desarrollo del cultivo. En la soja Bt se relevaron algunos huevos de *Rachiplusia nu*, pero no se hallaron larvas que indicaran su supervivencia en el material genéticamente modificado (resultado corroborado en condiciones de laboratorio).

Enemigos Naturales: ¿Qué predadores encontramos?

Se colectaron predadores tanto en soja Bt como en los refugios y en soja No Bt (Figura 2). Contrariamente a lo esperado se registró mayor abundancia en la soja Bt versus No Bt y abundancia similar respecto del refugio (Figura 2). Se registraron Arañas, chinches predatoras *Orius insidiosus* y *Nabis punctipennis*; *Geocoris sp.* (Insecta: Hemiptera) en gran abundancia, y *Crysoperla externa* (Insecta: Neuroptera), los cuales pueden controlar *Rachiplusia nu* al alimentarse de sus huevos y larvas.

Porqué se registró mayor abundancia de predadores en soja Bt, si la isoca no se desarrolla en dicho cultivo? Porque los predadores son generalistas que consumen varias presas para sobrevivir. La soja Bt controla larvas de lepidópteros, pero es colonizada por otros órdenes de insectos como los trips (sobre los cuales la toxina no tiene efecto) que desarrollan abundantes poblaciones en este cultivo. Los predadores *Orius insidiosus* y *Nabis punctipennis*, son pequeños insectos que han mostrado

marcada preferencia por los trips. En este sentido, se explican en gran medida que la abundancia poblacional de predadores registrada en soja Bt sea mayor que en la soja No Bt. Dichos predadores cuentan principalmente con trips como presa en soja Bt, en ausencia de los estados inmaduros de *Rachiplusia nu*.

Las arañas, han llegado a representar el 50 % del total de predadores registrados. Durante la “caza” inyectan a sus presas enzimas digestivas y veneno, produciendo una digestión parcial extracorporal para su posterior ingestión. Especies de diferentes Familias están presentes durante todo el ciclo del cultivo, y en sojas No Bt y refugios se alimentan, entre otras presas, de huevos y larvas de isocas defoliadoras. Las “arañas cangrejo”, de la familia Thomisidae y la especie *Argiope argentata* son las más comunes en el cultivo de soja. Con respecto a las chinches predatoras, el aparato bucal está adaptado para picar y succionar los contenidos celulares de sus presas. Tanto los adultos como las ninfas, además de alimentarse de larvas y huevos de isocas defoliadoras, pueden consumir ácaros y trips presentes en el cultivo.

¿Qué ocurrió con los parasitoides?

Entre los parasitoides registrados en isoca medidora se pueden mencionar las avispas de diversas Familias del

Orden Hymenoptera, y a las moscas principalmente de la Familia Tachinidae del Orden Diptera.

En los **refugios** para manejo de la resistencia, las isocas medidoras colectadas durante el desarrollo de las plantas, fueron clasificadas en mayores y menores a 15 mm de longitud del cuerpo (tamaño umbral larval en el Muestreo del Paño). En el laboratorio se criaron en condiciones controladas, hasta la emergencia del adulto de *Rachiplusia nu*, si estaban sanas, o de la avispa o mosca parasitoides si estaban parasitadas. Una vez emergidos los adultos, se identificaron las especies de parasitoides y se determinó el Parasitismo total (%) = N° total de larvas parasitadas x 100/ N° total de larvas colectadas.

Los parasitoides que registraron el mayor número de ejemplares y el mayor porcentaje de parasitismo pertenecen al Orden Hymenoptera, Familia Braconidae (braconidos) (Figura 3). El género *Microplitis* sps., registró el mayor número de ejemplares, y por ende el mayor porcentaje de parasitismo (44%). Este parasitoide emergió de larvas de tamaño menor a 15 mm. El género *Cotesia* sps. lo siguió en abundancia con un parasitismo del 26%. El resto de las especies de himenópteros presentaron un bajo número de ejemplares y bajo porcentaje de parasitismo. Los braconidos presentan preferencia por atacar los primeros estadios larvales de *Rachiplusia nu* y provocan

la muerte en el tercer estadio, larvas menores a 10 mm de longitud. Se multiplican rápidamente pues son muy prolíficos y poseen ciclos de vida cortos. En su mayoría son pequeñas avispas que parasitan principalmente lepidópteros y actúan como ecto o endoparásitos, parásitos huevo-larvales, huevo-pupales o larvales. Construyen un capullo sedoso, color blanco o amarillento de 3,5-4,0 mm de longitud. La relación huésped-parasitoide más frecuente es 1:1. El periodo larval es largo y parasitan todos los estados de desarrollo del hospedante y son específicos en relación al mismo. Los adultos tienen una vida corta. Como ejemplo, la acción del parasitoide *Cotesia* sp. consiste en que el adulto paraliza parcialmente a su hospedante, y coloca sus huevos sobre larvas de lepidópteros. Al eclosionar las larvas comienzan a alimentarse del interior de la isoca hospedante, sin llegar a matarla completamente; luego la larva del parasitoide empupa en un capullo blanco (Figura 3) sobre el hospedante. La avispa es un pequeño parasitoide de no más de 2 mm de longitud. Una vez que el parasitoide emerge, el hospedante muere.

Dentro de la familia Ichneumonidae se registraron ejemplares del género *Campoletis* sp. (Figura 3). Los mismos son avispas de tamaño mediano a grande que parasitan preferentemente larvas pequeñas de lepidópteros. La mayoría son endoparásitos larvales o larvo-pupales.

En cuanto a las moscas parásitas se registraron dos géneros dípteros taquínidos *Voria* y *Euphorocera*, parasitando larvas grandes, mayores a 15 mm. El género *Voria* ataca en los últimos estadios larvales (cuarto-quinto), la postura consiste en huevos macrotípicos (uno a ocho). El parasitoide se desarrolla dentro de la isoca y luego del estado de pupa, la mosca emerge de la larva defoliadora, y pueden emerger uno o más adultos por huésped. El género *Euphorocera* ataca en los últimos estadios larvales, la postura consiste en huevos macrotípicos. En este caso, la larva del parasitoide emerge de la pupa de *Rachiplusia nu* para empupar fuera (Figura 3), y solo puede emerger una mosca por huésped.

Desde el punto de manejo de la plaga en el refugio, el alto porcentaje de parasitismo evitó que la densidad poblacional de *Rachiplusia nu* alcanzara el umbral de daño económico. Además, el hábito de los algunos parasitoides de atacar larvas menores de 15 mm, evitó que alcanzaran el tamaño umbral de la isoca.

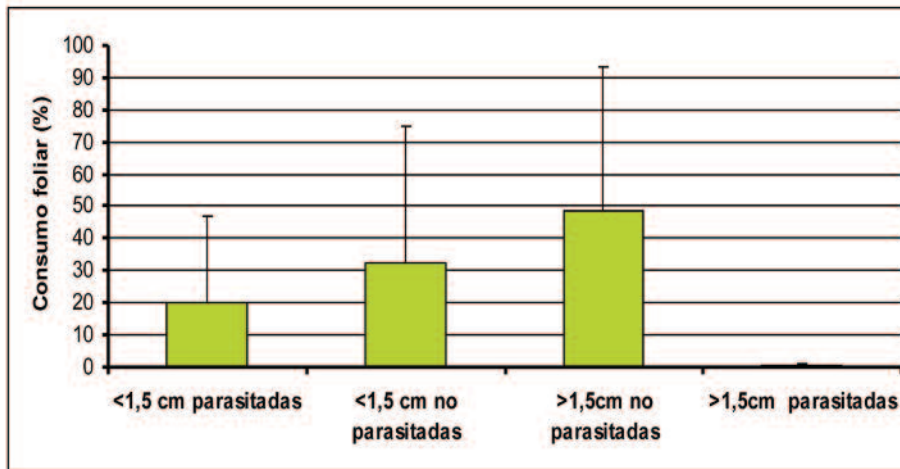
¿Las isocas parasitadas dejan de alimentarse y no hay pérdida de área foliar?

Los parasitoides pueden inducir cambios importantes en el comportamiento de su hospedante. Algunos de estos cambios pueden beneficiar a la isoca hospedante, o por el contrario

Figura 3 | Composición poblacional de parasitoides y parasitoidismo por tamaño de isoca medidora.

Orden	Superfamilia	Familia	Género y especie	Tamaño larval <i>R. nu</i> (mm)	Parasitismo (%)
Hymenoptera	Ichneumonoidea	Braconidae	<i>Cotesia</i> sp.	< 15	26
			<i>Microplitis</i> sp.	< 15	44
			<i>Aleioides</i> sp.	<15	6
			Ichneumonidae	<i>Campoletis</i> sp.	<15
Diptera	Oestroidea	Tachinidae	<i>Voria ruralis</i>	>15	6
			<i>Euphorocera</i> sp.	>15	12



Figura 4 | Consumo foliar de *Rachiplusia nu* mayores y menores a 15 mm parasitadas y no parasitadas.


Isoca parasitada con huevo de díptero.

pueden resultar en el aumento del desarrollo del parasitismo y de la supervivencia del parasitoide. La relación de varios insectos endoparasitoides y sus isocas hospedantes involucran cambios importantes en el comportamiento y la fisiología del hospedante, como la supresión del sistema inmunológico del mismo. La tasa de desarrollo de los insectos infestados a menudo es más lenta debido a los efectos inhibitorios sobre el consumo de alimentos y el crecimiento. La tasa de alimentación se reduce con frecuencia durante una infestación con la mayoría de los parásitos que causan una disminución en la tasa de consumo de alimentos, y una menor tasa de crecimiento de la isoca.

Teniendo en cuenta en primer lugar el tamaño de larva umbral para *Rachiplusia nu*, 15mm de longitud, en el presente estudio no se llegó a dicho tamaño en gran parte de la población colectada, ya que se registró un alto porcentaje de parasitismo de larvas menores a 15mm. En cuanto al número de larvas, no se alcanzó el umbral de 20 larvas mayores a 15 mm, por el parasitismo que controló una alta población de larvas pequeñas. Si bien las larvas grandes registraron menor porcentaje de parasitismo, dicho control contribuyó a disminuir el número de larvas por debajo del umbral. Además, el porcentaje de defoliación de la población larval para un tamaño promedio de folíolos, estuvo influenciado por el bajo consumo de larvas parasitadas, unido al consumo de un bajo número de lar-

vas sanas mayores 15 mm (Figura 4). El control biológico contribuyó a mantener la densidad de larvas de *R. nu* por debajo de la densidad y porcentaje de defoliación umbral (20%).

Es de considerar que las evidencias de Control biológico Natural en el Manejo Integrado de la plaga a nivel mundial, no presentan un porcentaje de parasitismo y disminución de la población total de larvas defoliadoras, que justifiquen la decisión de no aplicar otra estrategia de manejo. Algunas especies de parasitoides son más o menos eficientes con diferentes tamaños larvales o con bajas y altas densidades poblacionales, o con la combinación de ambas variables.

En este contexto, a pesar del parasitismo de isocas medidoras, en el refugio siempre quedará un porcentaje de larvas sanas para el desarrollo de ejemplares “susceptibles”, necesarios en el manejo de la resistencia de la plaga al material Bt.

Integrando estrategias de manejo

En el marco del Manejo Integrado de Plagas se promueve no eliminar las poblaciones de organismos perjudiciales sino disminuirlas a niveles que no ocasionen daño económico al cultivo.

En un agroecosistema con soja RR2 Bt, el escaso recurso con el que cuenta *Rachiplusia nu* para desarrollar-

se es el refugio, soja No Bt, y por ende la generación de adultos “susceptibles”, necesarios para evitar el desarrollo de resistencia a la soja RR2 Bt. Desde el punto de vista de Control Biológico Natural, se evidencia que los refugios cumplen la función de fuente de recurso para el desarrollo de *Rachiplusia nu*, las que a su vez son utilizadas por parásitos y predadores como hospedantes y presas, respectivamente.

Es de destacar entonces la importancia de realizar los refugios de soja No Bt en agroecosistemas con cultivos soja RR2 Bt, no solo como estrategia de manejo de la resistencia de la plaga al material genéticamente modificado, sino también para promover el Control Biológico por Conservación de Enemigos Naturales en el agroecosistema.

Finalmente, en el marco del análisis bioeconómico de la realización del cultivo, es importante considerar el valor del *servicio ecosistémico*, representado por el *parasitismo natural* de la plaga, e incorporarlo en la ecuación de nivel de daño económico en un cálculo paralelo al costo económico de la intervención con otras estrategias de manejo (soja Bt y/o los insecticidas). Esta modificación relacionada con el riesgo (ambiental, salud o servicios ecosistémicos) resultaría en decisiones de manejo de menor costo, tanto económico como ambiental, en el marco de la Producción Agrícola Sustentable.

