CULTIVO DE SOJA GLYCINE MAX (L.) MERRILL GENÉTICAMENTE MODIFICADA CON BACILLUS THURINGIENSIS BERLINER (BT), SU EFECTO EN LEPIDÓPTEROS Y DEPREDADORES EN EL NOROESTE DE BUENOS AIRES

Trabajo Final de Grado del alumno

JULIO SEBASTIÁN CARBONE

Este trabajo ha sido presentado como requisito para la obtención del título de

Ingeniero Agrónomo

Carrera BA

Reforma Umuse starda Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.

CULTIVO DE SOJA *GLYCINE MAX* (L.) MERRILL GENÉTICAMENTE MODIFICADA CON *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER (BT), SU EFECTO EN LEPIDÓPTEROS Y DEPREDADORES EN EL NOROESTE DE BUENOS AIRES

Trabajo Final de Grado

del alumno

JULIO SEBASTIÁN CARBONE

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido) **Evaluador**

(Nombre y Apellido) **Evaluador**

(Nombre y Apellido) **Evaluador**

Carolina A. SgarbiJuan Martín Peña

(Nombre y Apellido) **Co-Director**

(Nombre y Apellido) **Director**

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires

<u>ÍNDICE</u>

Resumen	4
Introducción	6
Hipótesis	19
Objetivos	20
Materiales y Métodos	21
Resultados	25
Discusión	35
Conclusiones	38
Bibliografía	39
Anexo	44

RESUMEN

Desde la campaña agrícola 2014 se comercializa en la República Argentina soja genéticamente modificada, que además de ser resistente a glifosato expresa el gen que codifica la toxina Cry1Ac, protegiendo los cultivos contra el ataque de lepidópteros plaga. Este tipo de cultivo presenta como ventaja la especificidad, persistencia y compatibilidad con otras tácticas de manejo integrado y el medio ambiente. 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. Esto obliga a analizar este posible impacto sobre el tercer nivel trófico. Más aun, considerando que los depredadores se exponen a la toxina Bt no solo por el consumo directo de la presa, sino que también cuando, por la falta de este alimento, ingieren polen o melazas. Este cambio en la alimentación podría reducir la eficacia biológica de estos insectos. El presente proyecto tiene como objetivos analizar la dinámica de poblaciones de larvas de lepidópteros, en especial el comportamiento de A. gemmatalis y sus depredadores en cultivares de soja Bt y no Bt. Se realizaron monitoreos semanales a campo durante la campaña agrícola 2014/2015. Para ello dentro de un mismo lote perteneciente a la Unidad Integrada INTA-UNNOBA, ubicado en la localidad de Pergamino, se sembraron en macro parcelas de 20 surcos de frente y 50 m de fondo, la variedad Experimental INTACTA RR2 PRO que expresa la toxina Cry1Ac de B. thuringiensis y la variedad Don Mario 4670 de uso frecuente en la zona de interés; en ambas la distancia entre surcos fue de 0,52 m. Se utilizó el método de paño vertical de 1m de ancho ya que es una técnica de amplia difusión para el monitoreo en soja. Para el análisis del material colectado e identificado se utilizaron los siguientes índices ecológicos: Índice de estimación de riqueza y abundancia Shannon-Wiener (H'), Índice de Similaridad de Sörensen (ISS), Índice de abundancia de Berger-Parker y curva de acumulación de especies de muestras de larvas de lepidópteros y sus predadores.

Podemos concluir que el material *Bt* tiene muy buen control hacia los lepidópteros blanco de esa tecnología. Respecto a los predadores, a través del método MLGM

no se encontraron diferencias significativas entre las variedades *Bt* y no *Bt*, excepto el gremio de las arañas que presentaron diferencia de abundancia a favor del cultivar no *Bt*. Se sugieren más estudios respecto a la diversidad y abundancia de arañas entre los cultivares de soja *Bt* y no *Bt*.

INTRODUCCIÓN

La disminución del rendimiento y/o calidad de los cultivos destinados al consumo humano debido a los organismos perjudiciales y más específicamente los organismos animales invertebrados, han motivado la generación, evaluación, adaptación y consolidación de un amplio conjunto de herramientas, técnicas, tácticas y estrategias para hacer frente a estas adversidades biológicas (Trumper, 2014).

El Manejo Integrado de Plagas (MIP), es un sistema de selección de técnicas de control integradas en una estrategia de manejo. Se lo define como un sistema de regulación de plagas, que teniendo en cuenta su hábitat y la dinámica poblacional de las especies consideradas, utiliza todas las técnicas y métodos apropiados compatibilizando al máximo su interacción con el objeto de mantener las plagas en densidades poblacionales que no originen daños económicos. Está basado en análisis de costo/beneficio y tiene en cuenta los intereses de los productores, la sociedad y el ambiente. En el MIP son importantes: el monitoreo de plantas, utilización de trampas; empleo de los umbrales y niveles de daño económico, conocimiento del ecosistema, el control biológico, el uso de variedades resistentes, implementar técnicas culturales y otras basadas en principios biológicos además del control químico (Adlercreutz, 2013). Respecto de este último, el MIP recomienda la reducción del uso de pesticidas a un mínimo. El impacto de los plaguicidas sobre las poblaciones de organismos benéficos es complejo, además de sus efectos letales directos, alteran la longevidad y fecundidad de los enemigos naturales. Los controladores biológicos generalmente son más sensibles a los plaguicidas de amplio espectro que los fitófagos, por lo cual toda aplicación debe ser compatible con su coexistencia (Molinari, 2005; Paleologos y Flores, 2014).

En la implementación del MIP, uno de los métodos de relevada importancia es el Control Biológico (CB), que consiste en la utilización de enemigos naturales – depredadores, parasitoides - para reducir el daño causado

por poblaciones de organismos plaga. Los depredadores son especies que a lo largo de su ciclo de vida matan y comen animales vivos para su desarrollo, sustento y reproducción (los depredadores juveniles usan las presas para su desarrollo mientras que los adultos las usan para mantenimiento y reproducción). Generalmente son más grandes que sus presas, requieren más de una presa individual para completar el desarrollo y son polífagos (Molinari, 2005). Su utilización como herramienta en el control biológico en sistemas de cultivos, requiere del conocimiento de la taxonomía y biología del depredador, su especificidad y de las tasas de depredación. Esto obliga a analizar el impacto que las plantas genéticamente mejoradas (PGM) tienen en el tercer nivel trófico. Sintetizan una toxina que puede afectar al insecto no solo por el consumo directo de la presa, sino que además cuando, por la falta de dicho alimento, ingiere polen o melazas. Este cambio en la alimentación podría reducir la eficacia biológica del gremio (Curis, 2013; Van Driesche *et al.*, 2007).

Entre los invertebrados que pertenecen a la categoría de los depredadores se encuentran especies de los órdenes Diptera, Coleoptera, Hemiptera, Neuroptera y las arañas (Araneae), alimentándose de artrópodos de menor tamaño. Dentro de las especies útiles para la agricultura, los coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) integran un complejo importante en el establecimiento del control natural de insectos plagas en muchos agroecosistemas. Se caracterizan por su amplio rango de aceptación de presas, fundamentalmente son conocidos como consumidores de áfidos, aunque se los cita también como reguladores poblacionales de cochinillas, de estados juveniles de lepidópteros, coleópteros, himenópteros, dípteros, tisanópteros, entre otros (Curis, 2013). Se incluyen especies cuyos adultos se caracterizan por tener cuerpo pequeño, oval y convexo dorsalmente, con manchas y colores vistosos, cabeza parcialmente escondida debajo del tórax, antenas y patas cortas; el primer par de alas endurecidas (élitros), el segundo membranosas; se desplazan con agilidad en busca de alimento. Depositan huevos en masa de color amarillo o anaranjado en el lugar donde se encuentran las presas. Adultos y larvas se alimentan de las

mismas presas, muestran preferencia por pulgones y en menor grado por huevos y orugas pequeñas de lepidópteros. De la familia Coccinellidae se puede mencionar a *Eriopis connexa* (Germar) entre otras (Molinari, 2005).

Los depredadores del orden Neuroptera, familia Chrysopidae, son de gran utilidad en el control biológico de plagas, pueden considerarse los neurópteros más abundantes y beneficiosos en los agroecosistemas. Esta familia presenta especies generalistas, especialistas en pulgones, y otras que se alimentan de néctar y secreciones melosas; tienen buena capacidad de vuelo y se mimetizan con el ambiente. El aparato bucal es masticador-chupador y son conocidos por ser extremadamente voraces, en su fase larval capturan y consumen varias plagas: pulgones, cochinillas, mosca blanca, trips, huevos y larvas pequeñas (Molinari, 2005).

Los depredadores del orden Hemiptera constituyen uno de los grupos más abundantes y frecuentes entre los insectos benéficos del follaje en cultivares de soja. Comprende varias especies de chinches benéficas, cuyo conocimiento es importante para evitar confundirlas con las perjudiciales o fitófagas. La familia Pentatomidae está representada por especies del género Podisus (Herrich-Schaeffer). Tienen la particularidad que las ninfas de los primeros estadios son fitófagas, mientras que las de mayor desarrollo y los adultos son depredadores o tienen régimen mixto. El adulto presenta cuerpo oval, de color marrón metalizado, escutelo grande y triangular y pronoto con espinas laterales; se destaca por tener conexivo muy desarrollado. Adultos y ninfas consumen huevos, chinches, larvas, ácaros, trips; en los primeros estadios no se alimentan o pueden hacerlo de vegetales, en el segundo son estrictamente entomófagos. La familia Anthocoridae está representada por especies del género Orius (Wolff). Son chinches pequeñas, alargadas y ovales, de cuerpo aplanado y colores oscuros. Se alimentan de insectos de cuerpo blando y pequeño: trips, ácaros, pulgones, cochinillas, mosca blanca y de huevos y larvas pequeñas de lepidópteros. En el cultivo de soja, los adultos y las ninfas se ubican en los brotes terminales (Molinari, 2005).

El complejo de arañas que integran la fauna del cultivo de soja constituyen un grupo entomófago potencialmente importante de control biológico, destacándose los siguientes atributos: componen la mitad de los depredadores registrados en soja, están presentes durante todo el ciclo del cultivo, inciden en la densidad de especies defoliadoras, son más abundantes en cultivos de soja de siembra directa, son carnívoros obligados, devoran estados inmaduros y adultos de consumidores primarios, son generalistas, están en muchos cultivos agrícolas y consumen múltiples presas, exhiben conductas corporativas, actúan varias especies juntas (Molinari, 2005).

La aplicación del CB se presenta como una alternativa eficaz y libre de riesgo frente a los problemas derivados del uso de plaguicidas. Se asume *per se* como una alternativa para incrementar la sustentabilidad de la agricultura dado que ayudaría a disminuir los costos de producción, la dependencia de insumos externos, incluiría en su utilización a todos los productores del sector, colaboraría en la producción de alimentos sanos y más baratos. Entre otras ventajas se resalta que los enemigos naturales no dejan residuos tóxicos ni contaminan el ambiente y no se produce generación de resistencia por parte de las plagas a sus enemigos naturales (Molinari, 2005; Paleologos y Flores, 2014).

El control biológico (CB) lo podemos clasificar como natural o espontáneo, sin intervención del hombre, o aplicado. Estas intervenciones definen tres categorías principales de CB aplicado: clásico, aumentativo y por conservación. El control biológico clásico, basado en la introducción de un enemigo natural en un nuevo ambiente, para que establezca permanentemente, regulando a la plaga de manera sostenida en el tiempo. Este método es recomendado para los casos en que una especie plagase establece en una nueva área, donde no están presentes los enemigos naturales que la regulan. Por lo general, estos programas dan mejores resultados en ecosistemas más estables, que permiten que las interacciones plaga-enemigo natural se establezcan por períodos de tiempo prolongados. El control biológico aumentativo

se realiza mediante liberaciones inundativas o inoculativas. La primera consiste en la liberación de un gran número de enemigos naturales que producen una reducción rápida del daño de la plaga o incluso una extinción local de la misma. Este tipo de control es apropiado para ecosistemas de carácter temporal breves o anuales y para cultivos con umbrales de daño muy bajos que necesitan de un control muy rápido durante las etapas tempranas de la infestación de la plaga. Mientras que la liberación inoculativa de enemigos naturales es una liberación periódica y de un número más reducido de individuos por cada evento de liberación. Este método tiene acción más persistente en el tiempo que la inundativa. Para esto, la población de la plaga debe ser de un tamaño suficiente como para soportar una segunda o tercera generación del agente liberado. El control biológico inoculativo se puede implementar tanto a campo como en invernaderos. Por último, el control biológico conservativo implementa varias medidas que protegen a los enemigos naturales presentes en el área, aumentando la abundancia y mejorar su desempeño. Implica identificar cuáles son los factores que limitan a la población de enemigos naturales o que influyen de manera negativa su acción reguladora y de este modo manipular el hábitat en consecuencia. Es decir, es crítico conocer la biología, la ecología y el comportamiento tanto de los enemigos naturales como de la especie plaga .Las diferentes estrategias no sólo no son excluyentes sino que además pueden combinarse con otras tácticas de control, dentro de un plan de manejo integrado de plagas. Muchas veces, una sola de estas estrategias no logra controlar eficazmente una plaga y, por lo tanto, resulta conveniente aplicar en simultáneo más de un método (Fischbein, 2012).

La resistencia genética mediante el uso de la biotecnología, es otra de las estrategias integradas en el MIP. Los cultivos biotecnológicos, también denominados cultivos transgénicos o genéticamente modificados (OGM), portan combinaciones de genes interespecíficos, no disponibles en la naturaleza, insertados por la biotecnología, con el objetivo de reducir el daño de insectos a los cultivos, así como la disminución de los problemas de resistencia a los insecticidas

(Curis, 2013; Aragón, 2003; James, 2015).

Los OGM con propiedades insecticidas, producen una proteína cristalina (Cry) que proviene de la bacteria *Bacillus thuringiensis (Bt)* Berliner. Estas proteínas son letales para los insectos susceptibles, ya que al ser ingeridas degradan las paredes de su tubo digestivo, creando poros en la membrana celular que propician un desequilibrio de iones, especialmente por la pérdida de potasio, 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, el pH estomacal disminuye por compensación del pH sanguíneo, posibilitando una septicemia y daños en los tejidos. Este efecto constituye la base de la defensa en los OGM que incorporan la capacidad de sintetizar la proteína Cry. La aparición en el mercado de semillas transgénicas se suma a otras tecnologías con rápida adopción (herbicidas y pesticidas especiales, la siembra directa) dando origen a un nuevo paradigma agrícola (Confalonieri y Roca, 2010; Curis, 2013).

Las primeras plantas genéticamente modificadas resistentes a insectos fueron producidas en 1987, cuando los genes que codifican para una toxina Cry derivado de la bacteria del suelo *B. thuringiensis* (*Bt*) se expresaron en *Nicotiana tabacum* (L.). Desde entonces se han utilizado varias proteínas Cry y nuevas proteínas con efecto insecticida, tales como inhibidores de la proteasa, lectinas e inhibidores de la a-amilasa. En 1995fueron aprobados por primera vez para la liberación comercial en los EE.UU. los cultivares de cultivos transgénicos de maíz *Zea mays* (L.) *Bt* y algodón *Gossypium hirsutum* (L.) *Bt* y sembrados por primera vez en 1996. Desde entonces, muchos cultivos, como el algodón, el maíz, la papa, el tomate, el arroz, la berenjena y verduras crucíferas, han sido genéticamente transformadas con genes derivados de las bacterias *Bt* del suelo (Yu *et al.*, 2011).

Durante 1994 investigadores de EE.UU. informaron la exitosa inserción en soja [*Glycine max* (L.) Merr.] del gen Cry1Ab con un control parcial de la oruga

Anticarsia gemmatalis (Hübner) (oruga de las leguminosas) (Lepidoptera: Erebidae). Dos años después se logra la alta resistencia con la incorporación del gen sintético Cry1Ac que producía altas cantidades de toxina Bt brindando control total de larvas de A. gemmatalis, Elasmopalpus lignosellus (Zeller) (barrenador menor del maíz) (Pyralidae), Helicoverpa zea (Boddie) (isoca de la espiga) (Noctuidae) y Chrysodeixis (=Pseudoplusia) includens (Walker) (falsa medidora) (Noctuidae). En Argentina se inició la evaluación de eficacia de líneas avanzadas experimentales de soja Bt en 1997 bajo la supervisión de la CONABIA (Comisión Nacional de Biotecnología para la Agricultura) y el SENASA. En 2012, se autorizó en nuestro país la comercialización de semillas, productos y subproductos de soja con eventos acumulados de resistencia a lepidópteros y tolerancia a herbicida, en particular Bt+RR2Y. Estos rasgos son otorgados por la presencia de las proteínas Cry1Ac y CP4 EPSPS, producto de expresión de los genes cry1Ac y cp4 epsps en los eventos mencionados, respectivamente (Aragón, 2003; Massoni, 2014).

La superficie cultivada de OGM a nivel mundial ha aumentado más de cien veces, pasando de 1,7 millones de hectáreas en 1996 a 179,7 millones de hectáreas en 2015, de las cuales el 50% correspondieron a soja, el 30% a maíz, 14 % a algodón y el 5% a canola. A su vez el 57% de la superficie total de OGM se sembró de cultivos tolerantes a herbicidas, el 16% en cultivos resistentes a insectos *Bt* y el 27% con cultivos que contenían ambas características acumuladas (Perotti *et al.*, 2014; James, 2015).

Los datos del *International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications* (ISAAA) para el período 1996-2015 indican que los cultivos biotecnológicos contribuyeron a: mejorar la seguridad alimentaria, la sustentabilidad y el cambio climático aumentando la producción de cultivos; proporcionar un mejor medio ambiente ahorrando el uso de aproximadamente 583 millones de kilos de principios activos de plaguicidas, reducir solo en 2014 las emisiones de CO2 en 27 millones de kilos, conservar la biodiversidad ahorrando el uso de 152 millones de hectáreas de suelo y mitigar la pobreza ayudando a casi

65 millones de personas, algunas de ellas las más pobres del mundo (James, 2015).

Las ventajas y desventajas de la biotecnología agrícola, especialmente con los OGM, han desatado un importante debate a nivel internacional en el que se mezclan criterios científicos, cambios regulatorios, fuertes intereses comerciales y distintas percepciones de los consumidores. Por un lado, este desarrollo tecnológico abre un escenario propicio para el desarrollo biotecnológico regional, siendo relevante el hecho de que los países de la región en su conjunto superan a Estados Unidos de Norteamérica en exportaciones del complejo de la soja (Passalacqua, 2012). Por otro lado, la soja transgénica, un cultivo común a los países del Mercosur, genera un debate respecto a las consecuencias del uso de esta tecnología. Se generan cuestionamientos respecto de los posibles riesgos que pueden tener los cultivos transgénicos en relación a los artrópodos presentes en los agroecosistemas. Los principales riesgos ecológicos que presenta el uso comercial de cultivos transgénicos serían (Curis, 2013):

- a) aparición temprana de plagas resistentes a los cultivos que contienen la toxina *Bt*:
- b) generación de interacciones potencialmente negativas por la alta concentración de la toxina *Bt* en cultivos, 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;
- c) demanda de más aplicaciones de insecticidas ante las plagas secundarias emergentes de los cultivos transgénicos lo que llevaría a su vez a la eliminación de los enemigos naturales del medio.

La República Argentina figura entre los tres principales productores mundiales de cultivos transgénicos, pioneros en la adopción de esta tecnología y con exigentes estándares en términos de evaluación y bioseguridad para las nuevas variedades a adoptar, siendo la soja tolerante al glifosato el primer cultivo GM introducido en el país e incorporado en la campaña agrícola 1996/1997 (Trigo,

Según el informe de ISAAA, Argentina continúa siendo uno de los principales países productores de cultivos transgénicos con 24,5 millones de hectáreas en 2015, donde más del 90 % de la soja, el maíz y el algodón que se cultivan en nuestro país son transgénicos (James, 2015; ArgenBio, 2016). Por otro lado, en la campaña 2015/2016 de las 24,5 millones de hectáreas sembradas de cultivos GM, aproximadamente 20,3 millones corresponden a soja, 3,18 millones a maíz y 0,4 millones para algodón (Ministerio de Agroindustria de la Nación, 2016; ArgenBio, 2016).

Desde la campaña agrícola 2014 se comercializa en Argentina soja modificada genéticamente, que además de ser resistente a glifosato expresa el gen que codifica la toxina cry Ac 1. Este gen (Bt), protege a la planta durante todo el ciclo del cultivo del ataque de algunas especies de larvas de insectos pertenecientes al Orden Lepidóptera: Crocidosema (=Epinotia) aporema (Walsingham) (barrenador del brote) (Tortricidae), A. gemmatalis, Rachiplusia nu (Guenée) (orugamedidora) (Noctuidae), Ch. includens (Walker), Helicoverpa gelotopoeon (Dyar) (isoca bolillera) (Noctuidae), Achyra bifidalis (Fabricius) (oruga de la verdolaga) (Crambidae), Heliothis virescens (Fabricius) (oruga capullera) (Noctuidae), Spilosoma virginica (Fabricius) (gata peluda) (Arctiidae) y Colias lesbia (Fabricius) (oruga de la alfalfa) (Pieridae). Respecto a Spodoptera frugiperda (Smith) (oruga militar tardía) (Noctuidae), E. lignosellusy H. zea, produciría un control parcial. La resistencia de estos lepidópteros a las toxinas Bt fue estudiada en bioensayos con insectos sometidos a elevada presión de selección. Las especies ordenadas de modo creciente de tolerancia a la Cry1Ac, en función de la CL 50 (µg de proteína activa/ml dieta, que produce la muerte del 50% de la especie expuesta) son: A. gemmatalis (0,04 a 0,21), R.nu (0,70), P. includens (0,77 a 3,72), S. frugiperda (≈100) y S. cosmioides (mayor que 100). El género Spodoptera (Guenée) es cien veces menos susceptible que Anticarsia (Hübner) por lo que juntamente con el resto de organismos plaga del cultivo como

chinches del Orden Hemiptera, Familia Pentatomidae que dañan vainas, los trips y arañuelas, que afectan la capacidad fotosintética y los patógenos, deben monitorearse y decidir su control en base a los umbrales de tratamiento (Massoniet al., 2014).

Anticarsia gemmatalis es una especie propia de las zonas tropicales y templadas de América, oligófaga de leguminosas y constituye el defoliador más importante de la soja en el hemisferio occidental. El adulto es una mariposa de 26 a 36 mm de expansión alar, coloración parda morada, grisácea o amarillenta, moteado de negro. Una línea oblicua cruza las alas desde el ápice del primer par hasta la mitad del margen anal del segundo par. Los machos son más pesados y grandes que las hembras. Éstas atraen al macho mediante la emisión de feromona sexual, y luego del acoplamiento desovan vainas, tallos y envés de las hojas. Los huevos son esféricos, ligeramente achatados de 1,5 mm de diámetro, la coloración es verde durante el inicio del desarrollo y rosado hacia el final del mismo. El período embrionario dura tres días, al cabo de los cuales eclosionan las larvas; son muy voraces, defolian hasta plantas desarrolladas. Las larvas son de color verde con líneas longitudinales blancas, pero hay formas oscuras; cada anillo del cuerpo está separado por una línea de color amarillo. Son muy movedizas, al tocarlas responden con movimientos intensos e incluso saltan tirándose de la planta. Durante los dos primeros estadios presenta solo tres pares de patas falsas, desplazándose como una "isoca medidora", a partir del tercero aparecen los apéndices abdominales restantes. En cultivo presentan el último par de patas falsos muy abiertos. Desarrolla seis estadios larvales, durante 20 a 30 días, luego empupa en la hojarasca o en el suelo y al cabo de 10 a 12 días emerge el adulto. La pupa mide alrededor de 16 a 18 mm de longitud, su color es verde al principio y castaño al final, dura entre 7-11 días. La fase de pupa transcurre en el suelo, bajo los restos de hojas, o apenas bajo la superficie. En nuestro país suceden alrededor de cinco generaciones anuales, transcurriendo el invierno en estado de pupa. En general aparece en los períodos de pocas lluvias, ya que con alta humedad es atacada por el hongo Nomuraea rileyi (Farlow) Samson, que las enferma quedando rígidas, de color blanco y adheridas a tallos y hojas. Las larvas

del primer estadio, roen la faz inferior de las hojas, a partir del segundo estadio consumen las partes tiernas de las hojas dejando las nervaduras intactas. En ataques muy severos pueden consumir brotes, tallos tiernos y vainas que aún no marcaron el grano (Urretabizcaya et al.; 2010).

El cultivo *Bt* presenta como ventaja la especificidad, persistencia y compatibilidad con otras tácticas de manejo integrado y el medio ambiente. La conclusión precedente se llega a partir de la problemática que presenta la soja como uno de los cultivos que sufre los mayores ataques de plagas animales, principalmente insectos, por lo cual requiere mayor dosis de insecticidas, por encima de los umbrales para los cereales (maíz, trigo) y oleaginosas (girasol, colza) (Aragón, 2003). Por otro lado, el margen bruto de la soja tolerante a lepidópteros y tolerante a glifosato es mayor en comparación al margen bruto de la soja tolerante a glifosato, tanto en campos propios como alquilados, además de brindar otras ventajas como: menor costo del monitoreo; menor uso de agua (menor cantidad de aplicaciones); menor uso de insecticidas (que generan menor costo y disminuyen el impacto ambiental) y menor uso de combustibles (menor número de aplicaciones y reducción en tareas de logística) (Trigo, 2011; Colagrossi *et al.*, 2015).

Sin embargo, el impacto de la tecnología *Bt* sobre el nicho ecológico actual de la soja, la evolución de las plagas y el manejo de la resistencia es un aspecto importante a tener en cuenta ya que la principal desventaja es la posible aparición de resistencia en períodos relativamente cortos de tiempo. Se habrían encontrado algunos casos de plagas resistentes a los OGM atribuyendo las causales a la no utilización del refugio o a su erróneo manejo, al desconocimiento de la frecuencia y tipo de heredabilidad de los genes de resistencia, a la no expresión de la alta dosis y al deficiente monitoreo de la susceptibilidad a la toxina *Bt* (Igarzábal y Gálvez, 2014; Perotti, *et al.*, 2014; Trumper, 2014)

Es por ello que las empresas que desarrollan y comercializan la

tecnología *Bt* fundamentan su manejo en los siguientes conceptos 1) la resistencia de carácter monogénica y recesiva, 2) la siembra de un cultivar no *Bt* como refugio, que permita la supervivencia de una proporción de individuos susceptibles de las plagas blanco, 3) la alta expresión de toxina *Bt* en el tejido de la planta (concepto de alta dosis), de manera de eliminar los heterocigotos con susceptibilidad intermedia, 4) la distancia del refugio al cultivo *Bt*, que permita el encuentro de adultos susceptibles con los escasos resistentes que puedan sobrevivir al cultivo *Bt*, de forma de evitar el apareamiento entre individuos resistentes y 5) conocimientos de las líneas base de susceptibilidad y dosis diagnóstico de la toxina *Bt*, previo a la aprobación comercial de los eventos transgénicos, como herramienta para el monitoreo de la susceptibilidad de las plagas blanco a lo largo del tiempo (Perotti, *et al.*, 2014).

La implementación del cultivo de los OGM podría generar cambios en los agroecosistemas, tanto sobre los lepidópteros que son blanco de esta tecnología, como sobre las plagas que no controla esta tecnología y el manejo de la resistencia. Con respecto a esta última, en el diseño de una sólida estrategia, se deberían considerar: la bioecología de la plaga, las propiedades de las toxinas *Bt*, los patrones espaciales y geográficos de adopción de los cultivos *Bt*, el monitoreo de la susceptibilidad de las plagas blanco y la comunicación fluida entre los actores involucrados (Curis, 2013; Igarzábal y Gálvez, 2014; Trumper, 2014). Otro grupo que se vería afectado es el del complejo de enemigos naturales que contribuyen al control natural de las especies de lepidópteros plaga, destacando a los depredadores (Molinari 2005; Trumper y Edelstein, 2008; Curis, 2013).

Nuevamente, si bien las toxinas de la soja *Bt* poseen alta selectividad y especificidad hacia los artrópodos "blanco" del control, el impacto esperado sobre los "no blanco" debe considerarse ya que en el agroecosistema existirá un nivel de exposición a toxinas que no ocurre naturalmente. Se deberá evaluar entonces, para garantizar el uso sostenible de esta tecnología, los efectos imprevistos que puedan surgir como consecuencia de la modificación genética en los cultivos, tanto sobre los artrópodos plaga como sobre los agentes de control biológico

(Romeis et al., 2008).

Con el objetivo de evaluar esta tecnología se realizaron monitoreos de poblaciones de lepidópteros y sus depredadores en cultivares de soja (*Bt* y no *Bt*) sembrados tardíamente, en la localidad de Pergamino, norte de la provincia de Buenos Aires.

HIPÓTESIS

El cultivo de soja genéticamente modificado, portador de genes de resistencia a lepidópteros plaga, no afecta a organismos no blanco como los depredadores de huevos y larvas de lepidópteros.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar el efecto de soja *Bt* en poblaciones de lepidópteros plaga y sus depredadores, en un cultivo experimental en la localidad de Pergamino, Provincia de Buenos Aires.

Objetivos Específicos:

- Analizar la dinámica poblacional de larvas de lepidópteros comparando un cultivar Bt con uno no Bt.
- Analizar la dinámica poblacional de los depredadores de huevos y de larvas de lepidópteros comparando un cultivar Bt con uno no Bt.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el predio de la Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales de la Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires -ECANA- UNNOBA-, ubicado en la localidad de Pergamino, provincia de Buenos Aires (33°57'28" O; 60°33'50" S), sobre un suelo serie Pergamino, Argiudol típico, de textura franco-limosa con un 23% de arcilla, un 65% de limo y un 12% arena.

Se sembraron dos variedades de soja de ciclo corto resistentes al herbicida glifosato (RR), uno con el gen de resistencia a lepidópteros incorporado(*Bt*)y otro sin el gen de resistencia a lepidópteros (no *Bt*).Los tratamientos (T) fueron T1: DM 4670 (disponible en el mercado, de uso frecuente en la zona de interés, material no *Bt*) y T2: variedad Experimental INTACTA RR2 PRO *Bt.* Las mismas se sembraron en siembra directa, en condiciones de secano libre de malezas y enfermedades, en 2 macroparcelas de 20 surcos de frente, con una sembradora experimental, con una distancia entre surcos de 52 cm., y 50 m de fondo, incluidos en un lote de producción de 2,5 ha sembrado con un cultivar de uso frecuente en la zona. El mismo tuvo trigo como cultivo antecesor. Se dejaron entre los mismos y el perímetro del ensayo caminos de 5 m de ancho para separarlos del lote de producción (Fig. 1). La siembra se realizó el 23 de diciembre de 2014 con una densidad de 20 plantas por metro lineal de surco.

Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) en el cual se evaluaron dos tratamientos (cultivares) con 12 repeticiones (estaciones de monitoreo)(Fig. 14).Los muestreos se realizaron cada 7-10 días, desde el 9 de enero al 28 de abril, pasando por los distintos estados fenológicos V1 a R8 respectivamente (según escala de Fehr y Caviness de 1977)(Fig. 1). En cada fecha de muestreo y en cada macroparcela se tomaron 12 unidades muestrales de un metro lineal quedando seis estaciones de muestreo en cada bordura separadas por tres pasos cada una (fueron consideradas repeticiones). Estas estaciones se definieron aleatoriamente, por sorteo de pasos (1 paso= 1m) en eje de

coordenadas X e Y. Se utilizó el método del paño vertical de un metro de ancho, técnica de amplia difusión para el monitoreo de plagas en soja (Trumper y Edelstein, 2008), para determinar las densidades de organismos plaga (orugas defoliadoras) y benéficos diversos (Massoni*et al.*, 2014). Se registró para cada unidad muestreal el número de larvas colectadas, agrupadas por tamaño, las especies y el número y especies de los depredadores.

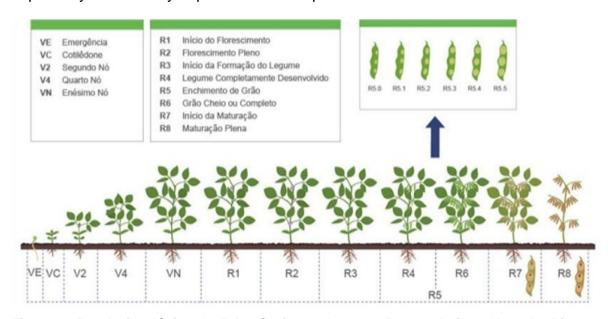


Figura 1: Escala fenológica de Fehr&Caviness de 1977. Fuente: Raissa Alves Rodrigues; Geagra.

Paralelamente se seleccionaron cuatro plantas al azar por cada punto de muestreo. El material fue trasladado en bolsas de papel al laboratorio para su posterior revisión con ayuda de la lupa binocular 20X, a fin de visualizar huevos de lepidópteros en los foliolos. Los huevos encontrados fueron clasificados por especie y se registró el número de huevos depredados en relación al total. La identificación de las larvas y de sus enemigos naturales se realizó mediante trabajos de Molinari (2005), Navarro *et al.* (2009), Urretabizkaya *et al.* (2010) e Igarzábal y Gálvez (2014).

Con el material colectado e identificado se realizaron distintos tipos de análisis como: curva de acumulación de especies de larvas de lepidópteros y sus enemigos naturales, estimación de la riqueza y abundancia (Shanon y Wiener),

índices de Similitud (Sörensen). Estos índices resultan en herramientas útiles para la descripción de los ambientes analizados.

Shannon-Wiener (H').

$$H' = -\sum_{i=1}^{S} p_i \ln p_i$$

Donde:

- S número de especies o riqueza de especies
- p_i proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i): $\frac{n_i}{N}$
- n_i número de individuos de la especie i
- N número de todos los individuos de todas las especies

De esta forma, el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (*riqueza de especies*), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (*abundancia*).

Estimación de la Similitud de los sistemas productivos:

A los fines de comparar la similitud en cuanto a la riqueza de especies en los distintos sistemas productivos (léase variedades de soja), e inferir, de acuerdo a las especies dominantes presentes, el efecto o daño que puedan producir sobre los mismos, se calculó el **Índice de Similitud de Sörensen (ISS)** según la siguiente expresión:

[ISS] = [2*Sij/(Si+Sj)]

Donde:

Sij: número de especies en común.

Si número de especies en la situación i

Sj: número de especies en la situación j.

Índice de Berger – Parker o de abundancia

Este índice expresa la importancia proporcional de las especies más importantes a través de la siguiente expresión:

$d = N_{max}/N$

N_{max}: Nº de individuos de la especie más abundante

N: Nº total de individuos de todas las especies.

Paralelamente, en cada punto de monitoreo, se revisaron las plantas y se colectaron posturas de lepidópteros encontradas.

Los datos se analizaron estadísticamente en un nivel de significancia del α = 0,05 con el programa Info Stat (versión 2011).



Figura2: Plano ensayo siembra de soja. Ref: *Bt*: variedad de soja *Bt*; No *Bt*: variedad de soja convencional; Rep: repeticiones.

RESULTADOS

Riqueza poblacional de artrópodos

En la presente investigación se han encontrado tanto especies fitófagas del complejo de orugas defoliadoras como especies benéficas.

Los lepidópteros encontrados corresponden al complejo de orugas defoliadoras y entre ellas se mencionan: *Anticarsia gemmatalis, Rachiplusia nu, Spodoptera sp., Spilosoma virginica, Achyra (Loxostege) bifidalis, Heliothis sp, y Colias lesbia.* Se registraron varias especies de insectos depredadores, pertenecientes a diferentes órdenes: arañas varias (Araneae), *Orius sp.* (Hemiptera: Anthocoridae), *Chrysoperla sp.* (Neuroptera: Chrysopidae), *Podisus sp.* (Hemiptera: Pentatomidae), *Nabis* sp. (Hemiptera: Nabidae), *Eriophis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) (Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencia relativa porcentual (f= n/N . 100%, N es el tamaño de la muestra) de individuos observados en ambas variedades.

Especie hallada	Frecuencia observada	Orden	Hábito
Arañas	66,57	Araneae	Depredador
Anticarsia gemmatalis	10,65	Lepidoptera	Fitófago
Orius sp.	6,25	Hemiptera	Depredador
Crysopa sp.	3,67	Neuroptera	Depredador
Spodoptera frugiperda	2,87	Lepidoptera	Fitófago
Rachiplusia nu	2,77	Lepidoptera	Fitófago
Podisus sp.	2,77	Hemiptera	Depredador
Spilosoma virginica	1,99	Lepidoptera	Fitófago
Nabis sp.	0,99	Hemiptera	Depredador
Loxostege bifidalis	0,6	Lepidoptera	Fitófago
Heliotis sp.	0,39	Lepidoptera	Fitófago
Eriophis connexa	0,29	Coleoptera	Depredador
Colias lesbia	0,19	Lepidoptera	Fitófago
Total	100		

En cada fecha de monitoreo y en cada punto de muestreo se registró

además el número de huevos de lepidópteros presentes en cuatro plantas tomadas al azar en ambos tratamientos, encontrándose mayor densidad total de ovoposición en la variedad *Bt*, esta diferencia se comienza a dar a partir del estado R5(Tabla 2).

Tabla 2. Densidad total y promedio de huevos de lepidópteros, durante los estados vegetativos y reproductivos, para cada cultivar. Pergamino, 2014-2015. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas según el análisis de test no paramétrico Mann-Whitney-Wilcoxon con un α = 0,05.

Fechas de monitoreos/Estadios		Huevos en <i>Bt</i>			Huevos en No Bt		
Fenológicos		Total	Media		Total	Media	
09-ene	V1	1	0,08	а	5	0,42	а
16-ene	V2	13	1,08	а	8	0,67	а
23-ene	V4	17	1,42	а	9	0,75	а
30-ene	R1	2	0,17	а	3	0,25	а
6-feb	R2	7	0,58	а	3	0,25	а
13-feb	R3	5	0,42	а	4	0,33	а
20-feb	R5	8	0,67	b	1	0,08	а
27-feb	R5	7	0,58	а	4	0,33	а
5-mar	R5	3	0,25	а	0	N/A	а
12-mar	R6	2	0,17	а	0	0	а
19-mar	R7	2	0,17	а	0	0	а
26-mar	R7	11	0,92	b	0	0	а
2-abr	R8	0	0	а	0	0	а
9-abr	R8	0	0	а	0	0	а
Total	•	78	0,46	b	37	0,22	а

Determinación de índices ecológicos

Para la estimación de la riqueza y abundancia de las especies se utilizó el índice de Shannon-Wiener (H') el cual dio como resultado para depredadores una diversidad similar en ambos tratamientos, teniendo valores en soja *Bt*: H'=0,671 y en soja no *Bt*: H'= 0,696. Son valores bajos en ambos casos, determinando ambientes de poca diversidad en cuanto a las especies de depredadores. En cuanto a los Lepidópteros: en soja *Bt* solo para larvas de

Spodoptera sp. > 1,5 cm: H'=0 (valor esperado ya que es la única especie encontrada en estos monitoreos) y en soja no *Bt:* H'=1,297, confirmando que la variedad *Bt* tiene un buen control sobre los organismos blanco; aunque en larvas menores de 1,5 cm los resultados son H'=1,023 para el cultivar *Bt,* H'=1,454 para el no *Bt* (Tabla 3). Estos valores aumentan porque inicialmente la abundancia de especies y su representatividad es mayor, pero van disminuyendo su población por efecto de la soja transgénica. Por eso solo la soja no *Bt* tiene valores de diversidad distintos a cero en las larvas más grandes.

A los fines de comparar la similitud en cuanto a la riqueza de especies en las distintas variedades de soja, se calculó el Índice de Similaridad de Sörensen (ISS) arrojando los siguientes resultados: en depredadores ISS=1 indica que comparten las mismas especies y para lepidópteros ISS=0,25 muestra que comparten el 25% del total de las especies (Tabla4); evidenciando junto con el índice anterior una similitud para los depredadores entre las variedades *Bt* y no *Bt*, y una gran diferencia en las especies de lepidópteros.

Para determinar la importancia proporcional de la especie dominante se calculó el Índice de Berger-Parker (D), obteniendo valores entre los cultivares D=0,75 (Araneae); y si éstas se excluyen D= 0,4478 (individuos del género *Orius*). Analizando los cultivares por separado se evidencian que los valores son muy similares, teniendo las mismas especies dominantes; cultivar *Bt* D= 0,829 (Araneae), y excluyendo arañas D= 0,485 (*Orius sp.*) y para no *Bt* D= 0,857 (Araneae), D= 0,41 (*Orius sp.*) (Tabla 3).

Tabla 3: Índice de Diversidad de Shannon Wiener (H'), eÍndice de Berger – Parker o de abundancia (D).

<u>Í</u> Indices	Bt	No Bt		
H' Depredadores	0,671	0,696		
H' Lepidópteros				
+1,5 cm				
(Spodoptera)	0	1,297		
H' Lepidópteros				
-1,5cm				
(Spodoptera)	1,023	1,454		
D (incluyendo	0,829	0,857	D entre cultivares (incluyendo	
arañas)	(Araneae)	(Araneae)	arañas)	0,75 (Araneae)
D (excluyendo	0,485 (Orius	0,41 (Orius	D entre cultivares (excluyendo	0,4478 (Orius
arañas)	sp.)	sp.)	arañas)	sp.)

Tabla 4: Índice de Similaridad de Sörensen (ISS).

ISS	
Depredadores	1
ISS Lepidópteros	0.25

Efecto del cultivar Bt en la abundancia de lepidópteros.

Al analizar la especie *A. gemmatalis*, una de las más importantes del complejo de orugas defoliadoras, solo se hallaron individuos mayores a 1,5 cm en el cultivar no *Bt* creciendo exponencialmente su población a partir del 20 de febrero (Figura 3). En el cultivar *Bt* se encontraron algunas larvas muy pequeñas, durante el período de crecimiento óptimo para la especie, aunque nunca llegaron a completar el ciclo (Figura 4). Mediante el análisis estadístico de Modelos Lineales Generalizados Mixtos MLGM (modelo que permite realizar el análisis estadístico integrando en el mismo todas las fechas monitoreadas), se observó que hubo diferencia significativa (p>0,05) (Tabla 10, anexo estadístico) entre los cultivares.

Figura 3: Dinámica poblacional de A. gemmatalis (larvas mayores a 1,5cm.)

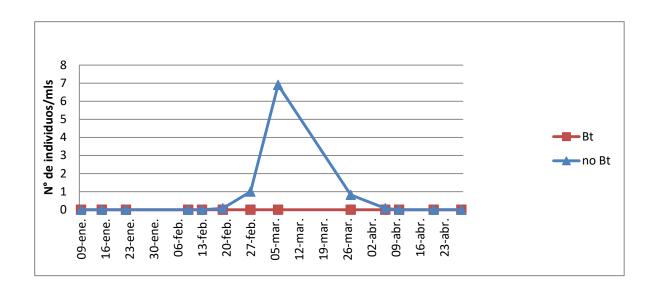
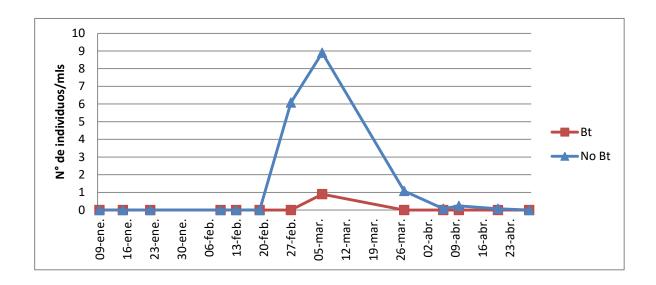
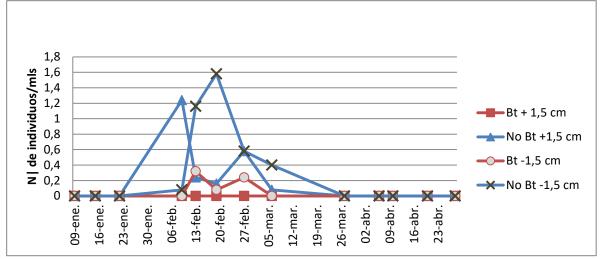


Figura 4: Dinámica poblacional de A. gemmatalis (larvas menores a 1,5cm.)



El análisis de la dinámica de la especie *R. nu,* muestra un patrón similar al de *A. gemmatalis* salvo que el pico de crecimiento se da a partir del 23 de enero (Figura 5). Según el modelo estadístico MLGM hay diferencia significativa (p>0,05) respecto del número de isocas a favor del cultivar no *Bt* (tabla 12, anexo estadístico).





Para la especie S. frugiperda (artrópodo no blanco), la dinámica poblacional observada mediante monitoreos entre el cultivar Bt y no Bt son similares (Figura 6), no encontrándose diferencias significativas (p>0,05) entre ambos (tabla 14, anexo estadístico).

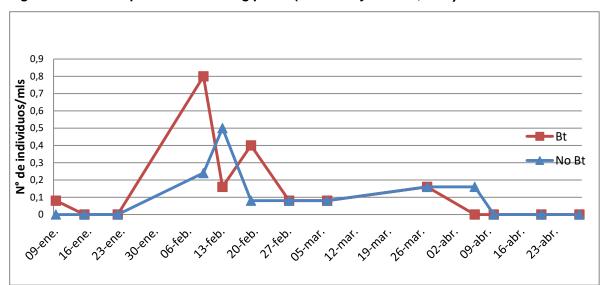


Figura 6: dinámica poblacional S. frugiperda (larvas mayores a 1,5cm.)

Otras especies encontradas, en baja proporción, fueron Heliothis sp. (Figura 7), S.

virginica (Figura 8) y *C. lesbia* (Figura 9). Si bien se encontraron algunos individuos esporádicamente en el cultivar no *Bt*, según el análisis estadístico MLGM no hubo diferencias significativas (p>0,05) entre ambos cultivares (Tabla 7, Tabla 8 y Tabla 16, anexo estadístico)

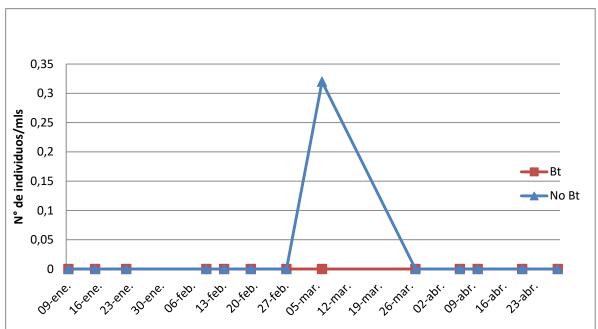


Figura 7: Dinámica poblacional de larvas de Heliothis sp.



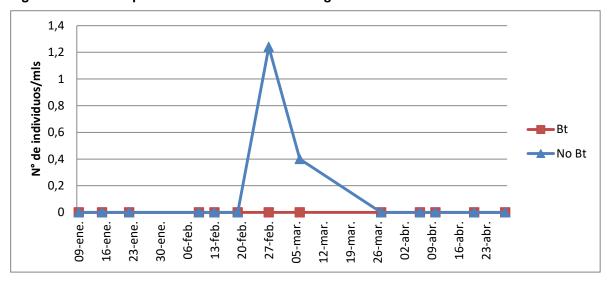
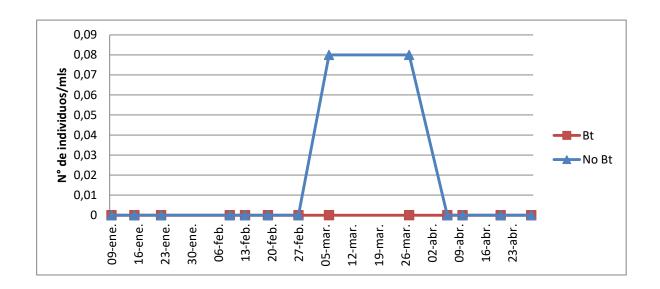
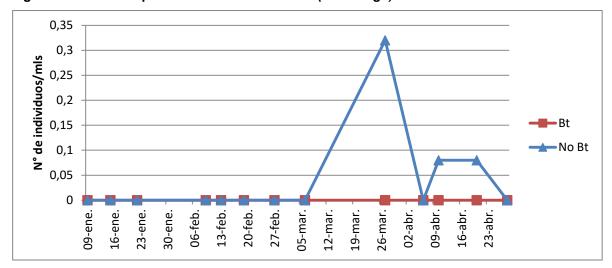


Figura 9: Dinámica poblacional de larvas de C. lesbia



De la especie *A. (Loxostege) bifidalis* se encontraron individuos con baja frecuencia en el cultivar no *Bt* (Figura 10), y según el análisis estadístico se encuentra diferencia significativa (p>0,05) entre cultivares (tabla 9, anexo estadístico).

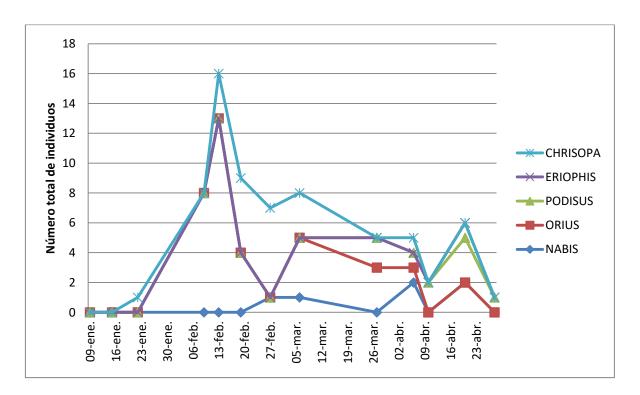
Figura 10: Dinámica poblacional de larvas de A. (Loxostege) bifidalis.



Efecto del cultivar Bt en la abundancia de depredadores.

Al analizar la presencia de *Nabis sp., Orius sp., E. connexa, Crisopa sp.*, y *Podisus sp.* (Figura 11) (Figura 12) en los cultivares evaluados, se observa que las cantidades de individuos por especie y por fecha fueron similares, esto se corrobora mediante el análisis estadístico de MLGM, donde no hubo diferencias significativas (p>0,05) entre los cultivares *Bt* y no *Bt* (Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4 y Tabla 5, Anexo Estadístico).

Figura 11: dinámica poblacional de predadores en cultivar *Bt*



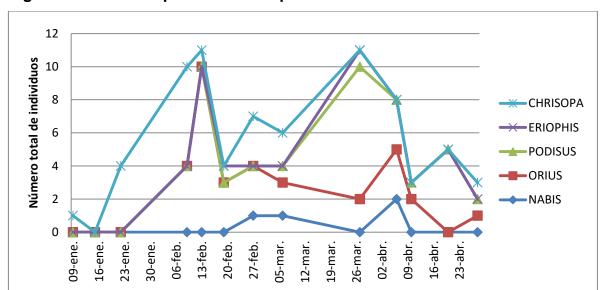


Figura 12: dinámica poblacional de predadores en cultivar no Bt

En el caso de arañas, se halló más abundancia de individuos en el cultivar no *Bt* (Figura 13), y al analizarlo estadísticamente mediante el MLGM se observa una diferencia significativa (p>0,05) a favor del cultivar no *Bt* (Tabla 6, Anexo Estadístico).

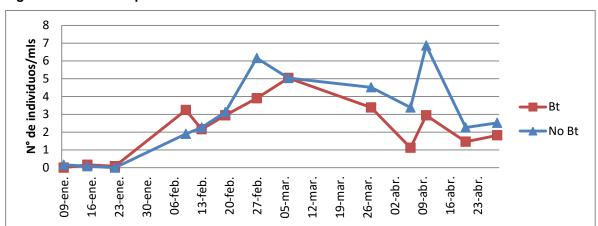


Figura 13: Dinámica poblacional de Arañas

DISCUSIÓN

Los resultados respecto a la presencia de lepidópteros demuestran que en el material no *Bt* se encuentra mayor diversidad de especies y en densidades más altas que en el Bt (Massoni et al., 2014; Curis, 2013). Individuos mayores a 1,5 cm de Anticarsia gemmatalis se encontraron solamente en el cultivar no Bt, como se podía prever, confirmando la efectividad de la tecnología evaluada. La dinámica de la población fue coincidente con la evolución del cultivo. El pico poblacional se evidenció el 5 de marzo cuando la soja estaba en la etapa de R5 (inicio formación de granos). En simultáneo, en la soja Bt solo se registraron individuos menores a 1,5 cm y en baja densidad. Un comportamiento similar se observó con Rachiplusia un durante todo el ciclo. Lo expuesto confirma la efectividad del control que ejerce la soja Bt sobre los organismos blanco analizados. Sin embargo, se debería continuar con las investigaciones respecto a la resistencia que puedan generar estos organismos blanco a la toxina Cry1Ac, principalmente en Anticarsia, la cual se comporta como defoliadora y principalmente alimentándose de granos en formación, resultando sumamente perjudicial para los cultivares de soja (Confalonieri y Roca, 2010; Igarzábal y Gálvez, 2014; Massoni, et al., 2014; Perotti, et al., 2014; Trumper, 2014).

En otros organismos blanco de esta tecnología, como especies del género *Heliothis sp_y S. virginica*, no se encontraron diferencias significativas en las poblaciones de los dos cultivares. No obstante, esto puede explicarse por la baja densidad poblacional que se registró. *Colas lesbia y Loxostege sp.*, si bien se encuentran de forma esporádica en el cultivar no *Bt*, nunca llegaron a una densidad poblacional de importancia para su control (Urretabizcaya *et al.*, 2010; Massoni, *et al.*, 2014).

Spodoptera sp. se encontró con poca frecuencia. Si bien la tecnología Bt produciría un control parcial, estudios en bioensayos demostraron que este género tiene una alta tolerancia a la proteína Cry1Ac, considerándose 100 veces menos susceptible que *Anticarsia*, por lo que debería monitorearse su evolución en este nuevo ambiente (Massoni, *et al.*, 2014).

La implementación de la tecnología *Bt*, en las condiciones ambientales que se dieron en el desarrollo de este trabajo, significaría la presión de un agente de control sobre varias especies de lepidópteros que no se encuentran en densidades que justifique una intervención. No obstante se recomienda la continuar con los monitoreos de esta tecnología, dado el carácter dinámico de las poblaciones de las especies halladas (Massoni, *et al.*, 2014)

Los resultados obtenidos en la Tabla 2, dan cuenta que en los primeros estados fenológicos de los cultivares Bt y no Bt no existe diferencia significativa en la distribución de la oviposición, mientras que a partir del estado R5 aumenta la densidad de oviposición a favor del cultivar Bt. En simultáneo se evidencia un aumento de población de A. gemmatalis en el cultivar no Bt. Este fenómeno se podría atribuir a lo investigado por Valverde y colaboradores en 2017, quienes concluyeron que a lo largo del desarrollo del cultivo, las mayores densidades de huevos se registran en etapas tempranas (estado vegetativo y floración) siendo menos abundantes durante la fructificación. También refiere a que las hembras de lepidópteros suelen ser selectivas al escoger el lugar donde oviponer; por ejemplo, en el caso de las hojas, las hembras en general lo hacen en las más nuevas, sin daños causados por otros herbívoros.

El gremio arañas se vio afectado en términos de abundancia por el material *Bt,* concordando con lo expresado por Molinari, (2005); Saluso *et al.,* (2015); Permingeat y Margarit, (2005). Comparando los cultivares mediante la aplicación del MLGM, las arañas son los depredadores que presentaron diferencias significativas entre *Bt* y no *Bt*, encontrándose mayor cantidad en el segundo cultivar.

Coincidiendo con otros autores (Curis, 2013) las arañas resultaron los

mayores colonizadores de los sistemas agrícolas y por ende son los predadores generalistas más comunes en agroecosistemas, constituyendo casi la mitad de la fauna predadora. En cuanto a la dominancia, la segunda especie en importancia resultó *Orius sp.*

Si bien por su condición generalista, las poblaciones de la mayoría de especies de arañas no dependen de la abundancia de una determinada presa Curis, (2013) y Liljesthrom *et al.* (2002) expresaron que las arañas pueden tener una dieta muy restricta cuando un tipo de presa es ofrecida en grandes densidades como suele ocurrir en ciertas plagas de monocultivo. Rypstra *et al.* (1999) encontraron que las arañas incrementan sus poblaciones con el aumento de la calidad de los herbívoros en el sistema.

Lo expuesto explicaría en parte la diferencia encontrada, teniendo en cuenta que los lepidópteros blanco del genotipo *Bt* constituyen una parte importante de los herbívoros del sistema.

En años donde, por las condiciones del ambiente, solo una especie de lepidópteros llegó a densidades importantes, el cultivar *Bt* está actuando sobre el mismo como un insecticida inespecífico. Esto incide negativamente respecto del control biológico, uno de los métodos del MIP (Molinari, 2005; Paleologos y Flores, 2014, Saluso, *et al.*, 2015; Permingeat y Margarit, 2005).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman parcialmente la hipótesis planteada respecto a que los cultivos *Bt* no afectan significativamente a las poblaciones de organismos no blanco como depredadores de huevos y larvas de lepidópteros.

Respecto a los predadores no arácnidos, no se encontraron diferencias significativas entre las variedades *Bt* y no *Bt*.

El gremio de las arañas resulta afectado en la dinámica de población por el material *Bt*. Se sugieren más estudios respecto a la diversidad y abundancia de arañas entre los cultivares de soja *Bt* y no *Bt*.

BIBLIOGRAFÍA

Adlercreutz, E. (2013) Hoja Informativa Manejo Integrado de Plagas. INTA. AER Mar del Plata. Disponible en:

https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-ea_041013.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Aragón, J. (2003) Avances en el desarrollo de soja con resistencia a insectos. Sección Entomología Suelos y Producción vegetal. INTA. Marcos Juárez. Disponible en:

https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-

<u>avances en el desarrollo de soja con resistencia a in.pdf</u>(Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

ArgenBio. Cuaderno N°43. 20 Años de cultivos transgénicos en el mundo y en Argentina (1996-2016) Disponible en:

http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=43(Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Colagrossi,Y., Meyer Paz,R. y Pereyra,E. (2015) Costos y márgenes de la soja *Bt.* Publicación III. 3pp. Disponible en: http://www.agro.unc.edu.ar/~comunicaciones/wp-content/uploads/2015/10/COSTOS-Y-MARGENES-DE-LA-SOJA-BT.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Confalonieri, V. y Roca, C.(2010) Manejo integrado de plagas. Programa de Refugios. En Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E. y Mroginski, L.,Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. 652 pp. 611-617. Disponible en: http://intainforma.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2010/09/bio_WEB.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Curis, M. C.(2013) Efecto de los maíces *Bt* sobre las plagas claves, secundarias y los enemigos naturales. Tesis para optar por el grado académico de: Doctor en Ciencias Agrarias. Univ. Nac. del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias. Santa Fe. Disponible en: http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/tesis/handle/11185/702 (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Fehr, W.R. y Caviness, C.E. (1977).Stages of soybean development.SpecialReport 80, Iowa Sate University, Ames, Iowa, U.S.A 12 pp.

Fischbein, D.(2012) Introducción a la teoría del control biológico de plagas. Serie Técnica: "Manejo Integrado de Plagas Forestales". Cuadernillo N°15. En Villacide J. y Corley J. (editores). Cambio Rural. Laboratorio de Ecología de Insectos INTA EEA Bariloche. 10pp.Disponibleen:

https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-control_biologico_de_plagas.pdf (Fecha de consulta 14 de abril de 2018).

Igarzábal, D. y Gálvez, M. C.(2014). ¿Quien cambió el menú? Spodopteracosmioides, una nueva invitada a la mesa de la soja. Disponible en: http://www.agrositio.com/vertext/vertext.asp?id=152894&se=18 (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

James, C. (2015) 20° aniversario de la comercialización mundial de cultivos biotecnológicos (1996 a 2015) y hechos destacados de cultivos biotecnológicos en 2015. ISAAA. Resumen Ejecutivo. Informe 51. 14pp. Disponible en: https://isaaa.org/resources/publications/briefs/51/toptenfacts/pdf/B51-Top10Fatcs-Spanish.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Liljesthrom, G., Minervino, E., Castro, D. y González, A. (2002) La comunidad de Arañas del cultivo de soja en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. NeurotropicalEntomology. 31(2): 197-210.

Massoni, F., Schlie, G., y Frana, J. E.(2014). Cultivo de soja *Bt*[RR2 PRO] y convencional [RR1] expuestos a poblaciones naturales de organismos plaga y depredadores. Publicación miscelánea. INTA-EEA Rafaela, (128). Disponible en: http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/2015/01/Soja-Bt-vs-convencional-expuestos-a-organismos-plaga-y-depredadores_MASSONI_F-4.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Ministerio de Agroindustria de la Nación Argentina-Subsecretaría de Agricultura.(2016). Informe mensual al 11 de agosto de 2016. Disponible en:http://agroindustria.gob.ar/.

Molinari, A.(2005). "Control Biológico". Especies entomófagas en cultivos agrícolas. INTA. Centro Regional Santa Fe. Estación Exp. Agropecuaria Oliveros. 1ª. Ed. 80 p.

Navarro, F. R., Saini, E. D. y Leiva, P. D. (2009). Clave pictórica de polillas de interés agrícola. INTA EEA Pergamino (Ed.).96 pp.

Paleologos, F. y Flores C. (2014). Principios para el manejo ecológico de plagas. En Sarandón J. y Flores C.(Editores), Agroecología. Bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables. Buenos Aires. Editorial UNLP. 260-285.

Passalacqua, S. A.(2012) El impacto de la soja transgénica en el sector agropecuario del Mercosur. Estudio de caso: Argentina y Uruguay. Tesis de post grado. Maestría en Procesos de Integración Regional. Mercosur. Universidad de Buenos Aires. Disponible en: https://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Tesis_Silvia%20Passalcqua.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Permingeat,H. y Margarit, E. (2005) Impacto Ambiental de los cultivos genéticamente modificados: el caso de Maíz *Bt*. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNR. Año V. N°7. 033-044.

Disponible en:

http://rephip.unr.edu.ar/handle/2133/816

(Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Perotti, E., Russo, R., López, R., Zari, F., Pradolini, E., Sanmarti, N., y Gamundi, J. (2014) Evaluación de estrategias de manejo de refugios asociados a cultivos de soja Bt sobre plagas blanco, no blanco y sus depredadores. Para mejorar la Producción-(52) INTA EEA OLIVEROS.177-182. Disponible en:

https://inta.gob.ar/sities/default/files/script-tmp-inta-evaluacin-estrategias-manejo-refugios-asociados-pdf

(Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Romeis, J., Bartsch, D., Bigler, F., Candolfi, M.P., Gielkens, M.M.C., Hartley, S.E., Hellmich, R.L., Huesing, J.E., Jepson, P.C., Layton, R., Quemada, H., Raybould, A., Rose, R.I., Schiemann, J., Sears, M.K., Shelton, A.M., Sweet, J., Vaituzis, Z. yWolt, J.D. (2008). Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods.NatureBiotechnology 26: 203-208.

Rypstra A., Carter, P., Balfour, R. y Marshall S. (1999) Características arquitectónicas de los hábitats agrícolas y su impacto en los habitantes de la araña. The Journal of Arachnology. 27: 371-377.

Saluso, A., Penco, R., Guelperin, P., De los Santos, M. y Tomasini L. (2015). Impacto de la Soja *Bt* sobre comunidades de artrópodos benéficos. XXIII Congreso Aapresid. Disponible en: http://2015.congresoaapresid.org.ar/wp-content/uploads/Adriana-Saluso.pdf (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Trigo, E. J. (2011). Quince años de cultivos genéticamente modificados en la agricultura argentina. ArgenBio. 52 pp. Disponible en:

www.argenbio.org/adc/uploads/15 anos Estudio de cultivos GM en Argentina.p df.(Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Trumper, E.V. y Edelstein, J.D. (eds).(2008). Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo, Ediciones INTA, Manfredi, 190 pp.

Trumper, E.V. (2014). Resistencia de insectos a cultivos transgénicos con propiedades insecticidas. Teoría, estado del arte y desafíos para la República Argentina. Agriscientia, 31, 109-126.

Urretabizkaya, N.; Vasicek, A. y Saini, E.(2010). Insectos Perjudiciales de Importancia Agropecuaria: 1.Lepidópteros. Buenos Aires. INTA, 40-57.

Valverde, L.; Virla, E. y Van Nieuwenhove, G. (2017). Distribución de los huevos de lepidópteros defoliadores (LEPIDOPTERA: Noctuoidea) en plantas de soja y su relación con la fenología del cultivo. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (en línea). ISSN 0370-4661 Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382853527022 (Fecha de consulta 20 de diciembre de 2017).

Van Driesche, R. G.; Hoddle, M. S. y Center, T. D. (2007) Control de plagas y malezas por enemigos naturales. Ed. USDA Forest Service Forest Health Technology Enterprise Team.765 pp.

Yu, H.L., LI Y.H. y WU K.M. (2011). Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis*crops on non-target organisms.JIPB 53(7): 520-538.

ANEXO

Nueva tabla : 16/11/2017 - 03:35:52 p.m. - [Versión : 16/03/2017]

Modelos lineales generalizados mixtos

```
mlgm.modelo.000_Nabis.sp_REML<-
lmer(Nabis.sp~1+Tratamiento+tiempo+Tratamiento:tiempo+(1|Fecha)
,na.action=na.omit
,REML=T
,control=lmerControl(optimizer=\"bobyqa\")
,data=mlgm.modeloR.data00)</pre>
```

Medidas de ajuste del modelo

n	AIC	BIC	logLik	sigma	df.resid
156	129,10	214,49	-36 , 55	0,27	130,00
ATC	v BTC men	ores impl	lica meior	•	

Pruebas de hipótesis marginales

SourcenumDFdenDF F-	value	p-value		
Tratamiento	1	130	0,36	0,5511
tiempo	12	130	0,62	0,8245
Tratamiento:tiempo	12	130	0,36	0,9756

TABLA 1- Nabissp. - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	PredLin E.E	. Media E.E	•
Bt corto	0,08 0,0	4 0,08 0,0	4 A
Inta	0,05 0,0	4 0,05 0,0	4 A
Medias con una	letra común no	son significa	ativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 2- Oriussp. - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	PredLin	E.E.	Media	E.E.				
Inta	0,38	0,11	0,38	0,11	A			
Bt corto	0,26	0,11	0,26	0,11	A			
Medias con una	letra com	ín no s	son sign	ificat	ivamente	diferentes	(p > 0)	,05)

TABLA 3- *Podisus*sp. - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,24	0,10	0,24	0,10	Α
Bt corto	0,12	0,10	0,12	0,10	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 4- Eriophissp. - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,03	0,02	0,03	0,02	Α
Bt corto	0,01	0,02	0,01	0,02	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 5- Chrysopasp. - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,23	0,07	0,23	0,07	Α
Bt corto	0,17	0.07	0.17	0.07	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 6- Arañas - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	5 , 73	1,10	5 , 73	1,10 A	
Bt corto	4 32	1 10	4 32	1 10	R

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 7- S.virginica - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,26	0,18	0,26	0,18	Α
Bt corto	0,00	0,18	0,00	0,18	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 8- C.lesbia - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,03	0,02	0,03	0,02	Α
Bt corto	0.00	0.02	0.00	0.02	Δ

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 9- A.bifidalis - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E. Inta 0,06 0,03 0,06 0,03 A Bt corto 0,00 0,03 0,00 0,03 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 10- A.gemmatalis>1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	PredLin	E.E.	Media	E.E.		
Inta	1,28	0,32	1,28	0,32	Α	
Bt corto	0,00	0,32	0,00	0,32		В

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

TABLA 11- A.gemmatalis < 1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	PredLin	E.E.	Media	E.E.		
Inta	1,28	0,32	1,28	0,32	Α	
Bt corto	0,00	0,32	0,00	0,32		В

 $\overline{\text{Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)}$

TABLA 12-R.nu>1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

		/		161		
Bt corto	0,00	0,09	0,00	0,09	В	
Inta	0,36	0,09	0,36	0,09	A	
Tratamiento	PredLin	Ε.Ε.	Media	Ε.Ε.		

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 13- R. nu<1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento	PredLin	E.E.	Media	E.E.			
Inta	0,36	0,09	0,36	0,09	A		
Bt corto	0,00	0,09	0,00	0,09	В		
Medias con una	letra com	ún no s	son sign	ificat	<u>ivamen</u> te	diferentes	(p > 0,05)

TABLA 14- S.frugiperda>1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,22	0,07	0,22	0,07	Α
Bt corto	0.12	0.07	0.12	0.07	Δ

Bt corto 0,12 0,07 0,12 0,07 A Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 15- S.frugiperda<1.5 - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,22 0	,07	0,22	0,07	Α
Bt corto	0,12 0	,07	0,12	0,07	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

TABLA 16- Heliothis.sp - Medias ajustadas y errores estándares para Tratamiento

LSD Fisher (Alfa=0,05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Tratamiento PredLin E.E. Media E.E.

Inta	0,05	0,05	0,05	0,05	Α
Bt corto	0,00	0,05	0,00	0,05	Α

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)