

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

Evaluation of *Spodoptera* complex behavior with the introduction of transgenic cotton in Tolima, ColombiaOscar Santos Amaya<sup>1</sup>, Oscar Delgado Restrepo<sup>2</sup>, Jorge Argüelles<sup>3</sup>, Elizabeth Aguilera Garramuño<sup>4</sup>

## ABSTRACT

In this study a record and an evaluation of the *Spodoptera* larvae complex (Lepidoptera: Noctuidae) of commercial transgenic cotton (Cry1Ac) planted in the central area of Tolima, Colombia were registered. During three plant developmental stages: vegetative, reproductive and maturity, 83 commercial plots with areas ranging from 1 to 10 hectares, were evaluated. *Spodoptera* complex (*Spodoptera frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia*) activity was evaluated in 315 ha, sampling seven plants per hectare, including refuges (12,6 ha), taking into account three different larvae sizes, small < 0.5 cm, medium > 0.5 and < 1.5 cm and large > 1.5 cm, as well as their location in the plant (leaf, flower and structure). There were statistically significant relationships between the larvae incidence (percentage of cotton plants with *Spodoptera* larvae present) and the different cotton genetic materials, with a significant higher larvae incidence in the transgenic plants (11,98% SE 4,03) than in conventional plants (9,13% SE 3,08) (0,0021\*). This tendency was also observed among *Spodoptera* complex species, both genetic materials and the three plant developmental stages. *S. frugiperda* prevailed in flowers and capsules, *S. ornithogalli* in leaves and flowers; and *S. sunia* in leaves. This pattern was observed in both genetic materials with statistical significance (0.0001\*). Larvae of all sizes were recorded in plants of both genetic materials; although there was no statistically significant dependency. Finally, there were small, medium and large *S. frugiperda* larvae in flowers and capsules, structures where the Bt toxin expression is the lowest in the plant.

**Keywords:** Distribution, *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera ornithogalli*, *Spodoptera sunia*.

Radicado: 2 de abril de 2009  
Aprobado: 18 de mayo de 2009

<sup>1</sup> I.A. Candidato a M.Sc. Universidad Nacional, Bogotá. santosamaya@gmail.com

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo. Universidad del Tolima, Ibagué. omade@hotmail.com

<sup>3</sup> I.A. M.Sc. Investigador asistente C.I. Tibaitatá, Corpoica, Mosquera.

jarguelles@corpoica.org.co

<sup>4</sup> Bióloga. Ph.D. Investigadora asistente C.I. Tibaitatá, Corpoica, Mosquera.

eaquilera@corpoica.org.co

Evaluación del comportamiento del complejo *Spodoptera* con la introducción de algodón transgénico al Tolima, Colombia

## RESUMEN

Se comparó el comportamiento de las larvas del complejo *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) entre lotes comerciales de algodón convencional y genéticamente modificado (Cry1Ac) en el Tolima, Colombia. Se evaluaron 83 cultivos de algodón (315 ha) y sus respectivos refugios (12,6 ha) en tres estados de desarrollo: vegetativo, reproductivo y maduración. En cada visita se seleccionaron al azar siete plantas por hectárea y se registró el número de larvas de *Spodoptera frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia*, el tamaño (pequeñas < 0,5 cm, medianas entre 0,5 y 1,5 cm, y grandes > 1,5 cm) y su ubicación en la plantas (hojas, flores y cápsulas). En el análisis de los datos se utilizó una prueba de dependencia no paramétrica de Ji-cuadrado ( $X^2$ ). La dependencia del porcentaje de larvas del complejo *Spodoptera* por planta fue significativamente mayor (0,0021) en las plantas transgénicas (11,98% SE 4,03) que en las convencionales (9,13% SE 3,08). Este patrón se conservó al analizar los datos por especie y estado de desarrollo de la planta. En ambos materiales genéticos se registró una dependencia espacial significativa (0,0001) entre las especies observadas y las estructuras de la planta: *S. frugiperda* predominó en flores y cápsulas, *S. ornithogalli*, en hojas y flores y *S. sunia*, en hojas. No hubo una dependencia significativa entre los materiales genéticos y las estructuras vegetales con el tamaño de las larvas. Se registraron larvas de todos los tamaños en flores y cápsulas, estructuras donde la expresión de la proteína Bt es baja.

**Palabras clave:** algodón genéticamente modificado, complejo *Spodoptera*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera ornithogalli*, *Spodoptera sunia*.

## INTRODUCCIÓN

LAS ESPECIES DEL COMPLEJO *Spodoptera* en algodón son consideradas plagas secundarias en Colombia (Baquero y López, 2002); sin embargo, existe el riesgo que alguna de las especies de este grupo aumente sus poblaciones en los materiales genéticamente modificados como respuesta a la reducción de la competencia interespecífica (lepidópteros sensibles a la toxinas Bt (Cry1Ac) y al mejoramiento en la calidad del hábitat por reducción en el número de aplicaciones de insecticidas.

Con el fin de registrar el comportamiento de estas especies se hizo un seguimiento de las larvas del complejo *Spodoptera* spp., en lotes comerciales de algodón en el segundo año de introducción de estos materiales genéticos en el Tolima.

Con la ingeniería genética ha sido posible insertar genes de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* (Bt) en plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.), con el fin de producir proteínas que afectan las larvas de lepidópteros y bajar las aplicaciones de insecticidas (Rodríguez *et al.*, 2005). Entre las especies de importancia económica objetivo de esta tecnología se destacan el gusano bellotero (*Heliothis virescens* F. 1777), el gusano del algodón (*Helicoverpa zea* Boddie 1850), el gusano rosado colombiano (*Sacadodes pyralis* Dyar 1912), el gusano rosado de la India (*Pectinophora gossypiella* Saunders 1843) y el gusano de las hojas (*Alabama argillacea* Hübner, 1823). Otras especies de lepidópteros como las del complejo *Spodoptera* presentan bajo grado de sensibilidad a esta proteína Cry1Ac (Silva, 2005).

La adopción de materiales de algodón genéticamente modificado ha sido mundialmente vertiginosa desde su liberación comercial en 1996. Se calcula que en el 2008 se sembraron 15,5 millones de hectáreas de algodón transgénico en el mundo, lo cual representa 12% del área en algodón (ISAAA, 2009). Colombia adoptó la tecnología Cry1Ac (Bollgard®, Monsanto) en el 2003 con 5% del área algodoneira (700 ha) (Martínez *et al.*, 2006) y en el 2008 llegó a las 28.000 ha (Agro-Bio, 2009). En el Tolima, la siembra de algodón genéticamente modificado cubrió 81,20% del área algodoneira en el 2007 (ICA, 2007), representada principalmente por algodón NuOpal y se reportó una reducción de 50% en el número de aplicaciones de insecticidas (Serrano, 2007).

Con esta tecnología se espera un ajuste en la comunidad de insectos asociados al algodón como respuesta a la eliminación o reducción de las poblaciones de las especies sensibles a la toxina Bt (Cry1Ac) y a la disminución del número de aplicaciones de insecticidas (aumento de la calidad de hábitat). Sin embargo, uno de los riesgos asociados a esta tecnología es el surgimiento de especies secundarias, que pueden colonizar los nichos que quedan libres por la mortalidad de las especies sensibles a estos materiales transgénicos (Altieri, 2000). Entre las especies potencialmente beneficiadas por tolerancia a los materiales de la primera generación se reportan las del complejo *Spodoptera* (Bacheler y Mott, 2003).

En el centro de Colombia las especies del complejo *Spodoptera* asociadas al cultivo de algodón incluyen a *S. sunia* (Guenée, 1852), *S. ornithogalli* (Guenée, 1852) y *S.*

*frugiperda* (Smith, 1757). Estas especies presentaron una sobrevivencia superior al 50% en parcelas experimentales de algodón NuOpal (Cry1Ac, Bollgard®, Monsanto) en la costa norte de Colombia (Díaz y Montenegro, 2003). Según Zenner y colaboradores (2008) la susceptibilidad a la toxina de larvas de *S. frugiperda* y *S. sunia* colectadas en el Tolima fue prácticamente nula; concluyeron estos autores que el algodón transgénico que se cultiva actualmente en Colombia proporciona un control satisfactorio de las helioquinas pero no del complejo *Spodoptera*, lo cual corrobora los resultados encontrados por Berrocal y colaboradores (2005) y Adamczyk y colaboradores (1997).

Teniendo en cuenta lo anterior, existe el riesgo que *S. frugiperda* se beneficie a mediano plazo con la entrada de los materiales de algodones transgénicos (Cry1Ac). Generalmente esta especie juega un papel secundario o terciario dentro del grupo básico de herbívoros de importancia económica asociados a los cultivos de algodón (García *et al.*, 2002); sin embargo, existen registros históricos de grandes irrupciones poblacionales en Estados Unidos con pérdidas económicas considerables, que se remontan a 1777 con repeticiones periódicas en 1912, 1915, 1918, 1920, 1928, 1975 y 1976 (Spark, 1979). En Colombia, esta especie ha seguido un patrón de comportamiento similar con aumentos poblacionales abruptos en Medellín (1914), norte del Tolima (1964), Sucre (1978, 1985, 1986), Córdoba (1979) y en el Sinú (1984, 1985) (Baquero y López, 2002). Este comportamiento se ajusta a las predicciones planteadas para individuos que evolucionan en ambientes impredecibles (estrategas "r") y para especies que exhiben plasticidad fenotípica. Por un lado, tiene un ciclo de vida corto, madurez sexual temprana, alta inversión energética en la reproducción y baja, en el cuidado parental, gran número de descendientes (Risch, 1987), amplia distribución geográfica (Spark, 1979) y gran capacidad de desplazamiento, que en este caso está apoyada por un sistema de ecolocalización único en invertebrados (Beerwinkle *et al.*, 1994).

*S. frugiperda* es una especie generalista que se encuentra desde el nivel del mar hasta los 2.000 msnm y utiliza más de 80 hospederos cultivados y silvestres (Westbrook y Sparks, 1986). Además, esta especie presenta gran variabilidad en ciertas características del ciclo de vida entre regiones (tropical y subtropical), y aun dentro de las mismas regiones, como respuesta a las condiciones ambientales bióticas y abióticas. Entre éstas, se ha registrado variabilidad en el número de huevos colocados por hembra, la duración del ciclo de vida e incluso el número de instares (Keith, 1988). Además, en el Tolima presenta biotipos (maíz y arroz) que son idénticos morfológicamente, pero que difieren en su composición genética, resistencia hacia insecticidas y *Bacillus thuringiensis*; el

biotipo de maíz es más resistente que el biotipo de arroz (Vélez *et al.*, 2008). Por todas las características anteriores existe el riesgo que al menos una proporción de la población sobreviva y se ajuste a los cambios ambientales y que en condiciones óptimas aumenten las poblaciones en muy corto tiempo (Spark, 1979).

Además de las características biológicas de *S. frugiperda*, Colombia presenta una alta heterogeneidad biofísica en los agroecosistemas algodoneros y una rotación permanente de cultivos que garantizan la reproducción continua de muchas especies de herbívoros.

Teniendo en cuenta lo anterior, se planteó la necesidad de registrar el comportamiento del complejo *Spodoptera* ante la entrada del algodón transgénico al campo, como base para tomar medidas preventivas y reducir riesgos ambientales y económicos. En este artículo se presentan los resultados del primer año de trabajo (2005-2006) período en el que se hizo un registro del comportamiento de las larvas del complejo *Spodoptera* en cultivos comerciales de algodón en la zona central del Tolima.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El trabajo se realizó en la zona central del Tolima, en los municipios de Espinal, Flandes, Guamo y Suárez, donde se concentra 80% de la zona algodonera del departamento (CCI, 2007).

### Selección de fincas

Se seleccionaron 83 lotes comerciales de algodón de 1 a 10 ha con una separación entre sí de 3 a 5 kilómetros. Todos los lotes se georreferenciaron y evaluaron hacia la mitad de cada una de las etapas de desarrollo fenológico del cultivo definidas por la Federación Nacional de Algodoneros (1986) así: etapa vegetativa, desde la germinación hasta la aparición de los primeros botones; etapa reproductiva, desde la aparición de los primeros botones hasta la aparición de las primeras cápsulas abiertas; etapa de maduración, desde la aparición de las primeras cápsulas abiertas hasta la recolección.

En cada visita se evaluó la incidencia de larvas del complejo *Spodoptera* (*S. frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia*) en 7 plantas por hectárea seleccionadas al azar. Independientemente del tamaño de los refugios de los lotes sembrados con materiales transgénicos, se revisaron en cada uno sólo siete plantas al azar, ya que usualmente el sistema de siembra que domina en la zona es 96 : 4, o sea 96% de algodón transgénico y 4% de algodón convencional (este

último porcentaje corresponde al refugio). En cada planta se registró el número de larvas por especie y se discriminó tanto la ubicación de la larva (hoja, botón, flor y cápsula) como su tamaño (pequeñas < 0,5 cm; medianas > 0,5 y < 1,5 cm; grandes > 1,5 cm) y la presencia de posturas.

### Análisis estadístico

La incidencia de larvas se calculó generando el porcentaje de la variable observada con respecto al total de plantas observadas ( $(\sum \text{larvas registradas} / \sum \text{de plantas revisadas}) \cdot 100$ ).

Los datos no se ajustaron a una distribución normal independientemente de las transformaciones realizadas, por lo cual se utilizaron pruebas de dependencia no paramétrica de Ji-cuadrado ( $X^2$ ) para evaluar la dependencia del complejo *Spodoptera* en función de los materiales genéticos de algodón revisados y sus estados de desarrollo fenológico. El análisis de los datos y los resultados se apoyaron con gráficas.

### Tamaño de las muestras

De los 83 lotes seleccionados al azar, 73 se sembraron con semilla transgénica Bollgard I (Monsanto®) (Cry1Ac) y 10 con semilla convencional. En el primer caso se muestreó un área de 315 ha con sus respectivos refugios y en el segundo, 36 ha. Se revisaron 6.075 plantas transgénicas y 1.467 convencionales, para un total de 7.542 plantas revisadas en el primer semestre del 2005. El desbalance en el tamaño de las muestras entre materiales genéticos refleja el porcentaje del área sembrada con semillas transgénicas ese año en el Tolima que fue de 63,4% aproximadamente (ICA, 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Incidencia de larvas por material genético

La incidencia promedio de larvas del complejo *Spodoptera* (*S. frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia*) en los 83 lotes evaluados teniendo en cuenta la lectura en los tres estados de desarrollo fue de 11,48% SE 4,00; al discriminar entre materiales genéticos se registró un mayor porcentaje de larvas del complejo *Spodoptera* en plantas transgénicas (11,98% SE 4,03) que en las convencionales (9,13% SE 3,08) (0,0021) (figura 1). Esta relación mostró dependencia significativa con excepción de *S. ornithogalli* ( $X^2 \alpha = 0,01$ ) (tabla 1). La tendencia se conservó al discriminar la incidencia de cada especie del complejo *Spodoptera* por material genético (figura 2). La mayor incidencia registrada en el algodón transgénico puede deberse a que en los lotes de algodón NuOpal la calidad del hábitat favorece las pobla-



**Figura 1.** Larva de *S. frugiperda* en flor

**Tabla 1.** Prueba de dependencia ( $\chi^2 \alpha = 0,01$ ) de la incidencia de larvas del complejo *Spodoptera* sin discriminar los materiales genéticos de algodón (NuOpal, Delta Opal) en el centro del Tolima, semestre A, 2005.

Variable	Grados de libertad	Valor	Probabilidad
Complejo <i>Spodoptera</i>	1	9,4763	0,0021*
<i>Spodoptera frugiperda</i>	1	46,813	0,0305*
<i>Spodoptera ornithogalli</i>	1	0,9437	0,3313
<i>Spodoptera sunia</i>	1	5,128	0,0235*

\* Diferencia significativa ( $\alpha = 0,01$ ).



**Figura 2.** Larva de *S. frugiperda* en cápsula

ciones del género *Spodoptera* debido a que hay una reducción en el número de aplicaciones de insecticidas de 50%, lo que en el Tolima representa al menos dos aplicaciones

por semestre. Además, se reduce la competencia interespecífica entre insectos herbívoros por la mortalidad de las especies susceptibles a estos materiales como *Sacadodes pyralis*, *Pectinophora gossypiella*, *Alabama argillacea*, *Heliothis virescens* y *Helicoverpa zea*.

En cuanto al algodón transgénico, existen reportes de menor concentración de gossipol (Monsanto, 2002), sustancia que protege la planta del ataque de insectos herbívoros (Stipanovic *et al.*, 2008)-, y de mayor fuente de aminoácidos, proteínas y ácidos grasos que podrían aumentar la tasa de reproducción y disminuir el ciclo de vida de dichos insectos herbívoros, propiciando un mayor número de generaciones por ciclo del cultivo. Además, Barragán (comunicación personal, 2008) ha registrado un follaje más exuberante y verde en las plantas de algodón NuOpal que en los materiales convencionales en el Tolima, lo que fisiológicamente representan un mayor número de nectarios y azúcares disponibles para los adultos del complejo *Spodoptera*.

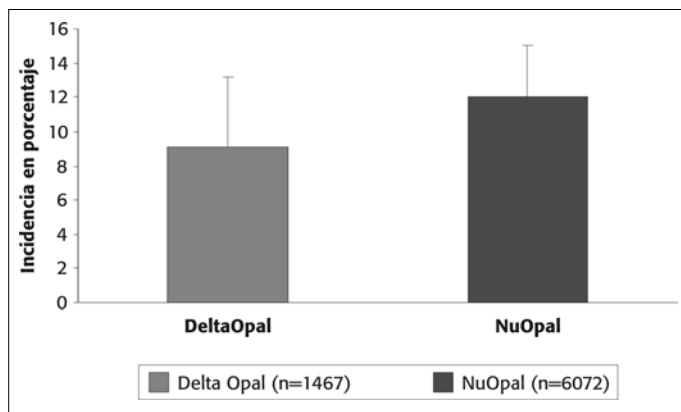
Esta situación pone en riesgo las expectativas de los agricultores de mantener un bajo número de aplicaciones de insecticidas en los cultivos de algodón transgénico, ya que se encontró que las especies del complejo *Spodoptera* y en especial de *S. frugiperda* catalogada como estrategia "r" (Risch, 1987), se alimentan de las flores y las cápsulas (figuras 1 y 2), de las cuales depende la producción del cultivo.

Estos resultados apoyan lo planteado por Zenner y colaboradores (2008), quienes sugieren que con el tiempo *S. frugiperda* y *S. sunia* pueden pasar de ser plagas secundarias a primarias por la baja susceptibilidad que presentan a la toxina Cry1Ac de la variedad Bollgar® sembrada en Colombia. Esto se refuerza con los trabajos de Borrero y Zenner (1998), quienes reportaron un incremento de 4,6 veces la CL50 de *S. frugiperda*, después de una presión de selección de cuatro generaciones en laboratorio sobre una población, con una formulación comercial de Bt (mezcla de cinco toxinas, incluyendo Cry1Ac).

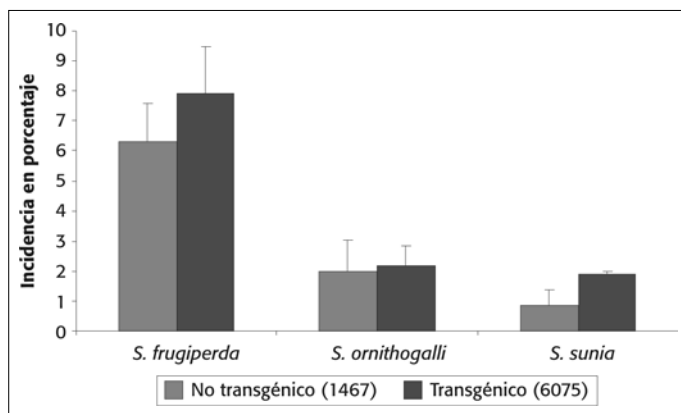
En condiciones de campo, estas especies, que actualmente están sometidas a una constante presión de selección en los sistemas de rotación algodón-maíz con materiales genéticamente modificados, pueden acelerar el desarrollo de resistencia a estos materiales genéticos.

#### **Incidencia de larvas por estado de desarrollo fisiológico y material genético**

La incidencia promedio de larvas por planta del complejo *Spodoptera* (*S. frugiperda*, *S. ornithogalli* y *S. sunia*) aumentó a medida que avanzó el desarrollo fisiológico de las plantas de algodón en los dos materiales genéticos evaluados,



**Figura 3.** Incidencia en porcentaje de larvas del complejo *Spodoptera* en dos materiales genéticos de algodón en la zona central del Tolima, semestre A, 2005



**Figura 4.** Incidencia en porcentaje de larvas de especies del complejo *Spodoptera* por material genético de algodón en la zona central del Tolima, semestre A, 2005

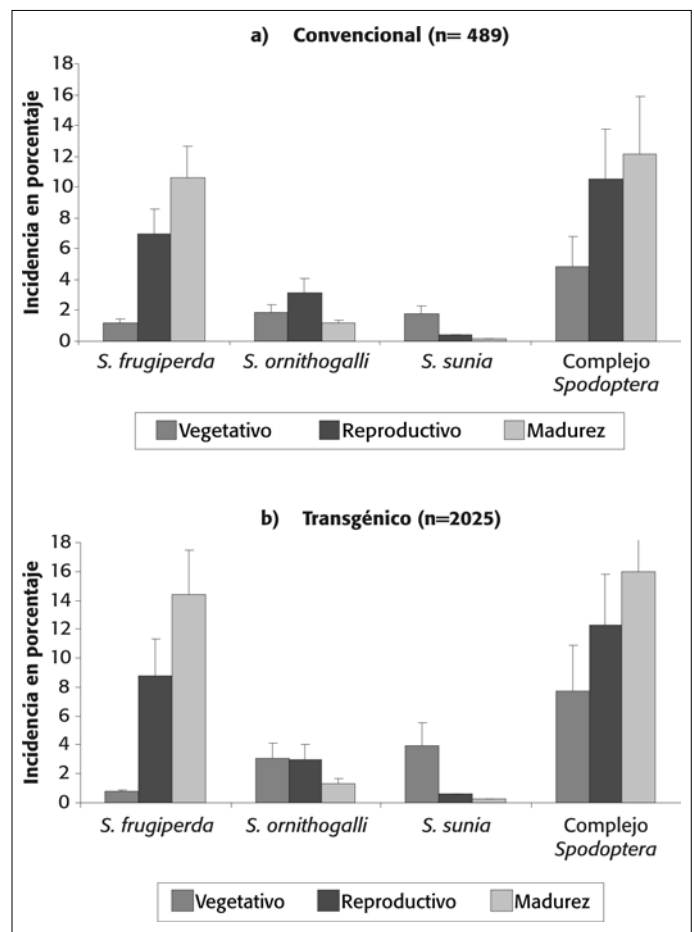
siendo menor la incidencia en el convencional (vegetativo 4,8% SE 2,01; reproductivo 10,4% SE 3,23 y madurez 12,01 SE 3,81) que en el transgénico (vegetativo 7,23% SE 3,15; reproductivo 12,09% SE 3,51 y madurez 15,12% SE 4,81) (figuras 5a y 5b); la dependencia fue significativa ( $\chi^2 \alpha = 0,01$ ). Esto puede relacionarse con la disminución de la concentración de la proteína específica Cry1Ac a medida que aumenta la edad de la planta, tal como lo han reportado Olsen y colaboradores (2005), quienes indican que a medida que el cultivo se desarrolla, la concentración de la proteína disminuye, por ende en los primeros estados de desarrollo fonológico la planta expresará mayor concentración de la proteína Cry1Ac que en los posteriores. Estos autores señalan que dichos cambios disminuyen la eficiencia del control. Este comportamiento de la planta se debe a cambios en el nivel de expresión del gene y/o a la constitución fisiológica de la planta y pueden ser inducidos por las condiciones ambientales.

Este patrón se conservó tanto en algodón transgénico (NuOpal) como en el convencional (DeltaOpal) y la

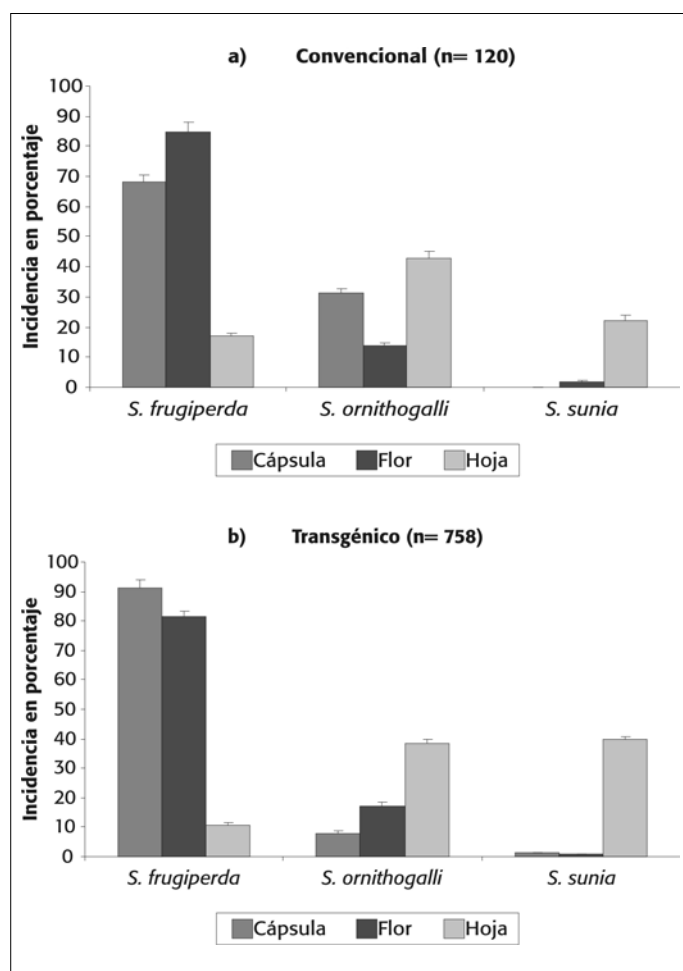
dependencia fue significativa ( $\chi^2 \alpha = 0,01$ ). En términos generales, *S. sunia* se presenta con mayor incidencia en el estado vegetativo del cultivo, *S. ornithogalli*, en el reproductivo y *S. frugiperda*, en el reproductivo y en maduración (figuras 5a y 5b).

### Incidencia de larvas del complejo *Spodoptera* por estructura

Se encontró una dependencia significativa ( $\chi^2 \alpha = 0,01$ ) entre el porcentaje de larvas por especie y su ubicación en las estructuras de las plantas sin discriminar los materiales genéticos y al discriminarlos. Esto significa que hay un patrón espacial definido de cada especie en la planta de algodón: *S. frugiperda* predomina en flores y cápsulas; *S. ornithogalli*, en hojas y flores y *S. sunia*, en hojas (figuras 6a y 6b). Este patrón se mantuvo entre materiales genéticos pero se registró una diferencia en el porcentaje de larvas en cápsulas con *S. frugiperda* y *S. ornithogalli*. La incidencia de la primera especie fue mayor en las plantas transgénicas que en las convencionales mientras que el porcentaje de la segunda especie fue mayor en las plantas no transgénicas.



**Figura 5.** Incidencia en porcentaje de larvas del complejo *Spodoptera* por estados de desarrollo en material de algodón convencional (a) y transgénico (b) en el centro del Tolima, semestre A, 2005

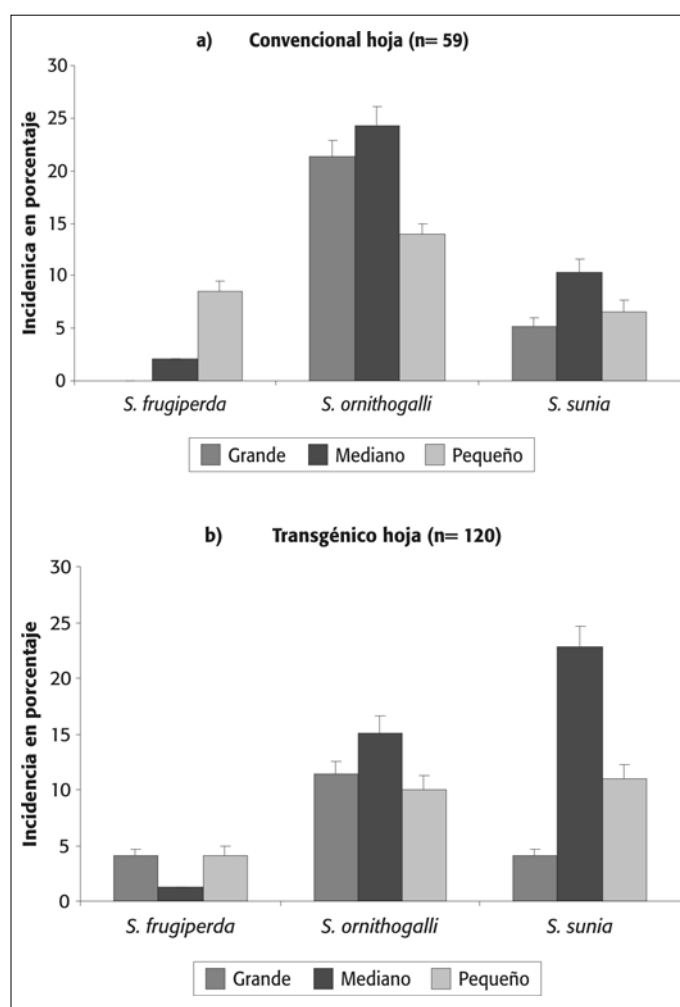


**Figura 6.** Incidencia en porcentaje de larvas del complejo *Spodoptera* por estructuras en material de algodón convencional (a) y transgénico (b) en el centro del Tolima, semestre A, 2005

Existe mayor incidencia de *S. frugiperda* en cápsulas y flores en los dos materiales de algodón, estructuras que junto con el botón floral presentan menor concentración de Cry1Ac en los materiales genéticamente transformados (Zenner *et al.*, 2008). Estos autores evaluaron durante diferentes el desarrollo de la planta la concentración de la toxina en los tejidos de las estructuras de Bollgard®, y encontraron en las hojas cotiledonales la mayor concentración de la proteína específica Cry1Ac (4,625 ppm) y en la flor sin fecundar la menor (0,65 ppm); las larvas en la flor se observaron antes de la antesis y no después. También reportan que las menores concentraciones de la toxina se presentan en el botón floral (1,67 ppm) y en la cápsula (1,82 ppm). Estos datos permiten inferir que hay una ventana de escape de las especies respecto a la toxina del algodón transgénico que varía en la planta. La baja concentración de la toxina en los tejidos hace que el control esperado sea bajo y refuerza los resultados de otros investigadores (Garczynski *et al.* 1991; Bohorova *et al.* 1997; Zenner *et al.*, 2005; Pardo *et al.*, 2006).

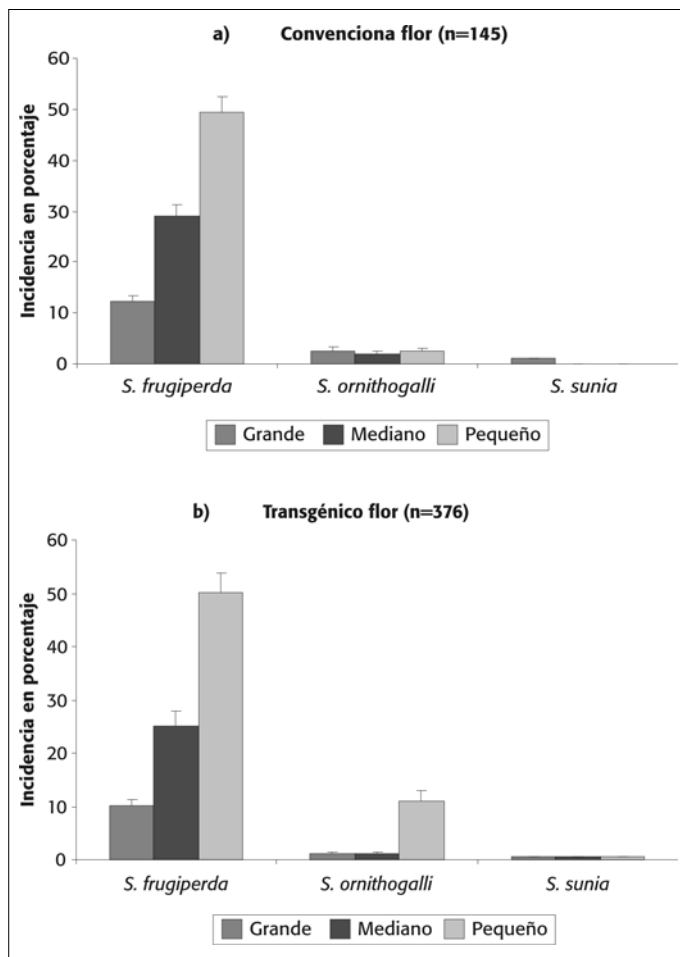
### Tamaño de larvas por estructura

Aunque no se registró dependencia significativa entre el tamaño de las larvas de cada especie del complejo *Spodoptera* con las estructuras de la planta (hoja, flor y cápsula) por material genético ( $X^2$ ,  $\alpha = 0,01$ ), se presentan las gráficas para facilitar el análisis de los resultados. En las hojas de algodón transgénico y convencional se presentaron todos los tamaños de larvas de estas especies, con excepción de las larvas grandes de *S. frugiperda* en algodón convencional (figuras 7a y 7b). En las plantas transgénicas predominó la presencia de larvas grandes y medianas de *S. ornithogalli* y larvas medianas y pequeñas de *S. sunia*. Estas son las dos especies que predominan en la etapa vegetativa del algodón.



**Figura 7.** Incidencia en porcentaje de larvas por tamaño del complejo *Spodoptera* en hojas de algodón convencional (a) y transgénico (b) en el centro del Tolima, semestre A, 2005

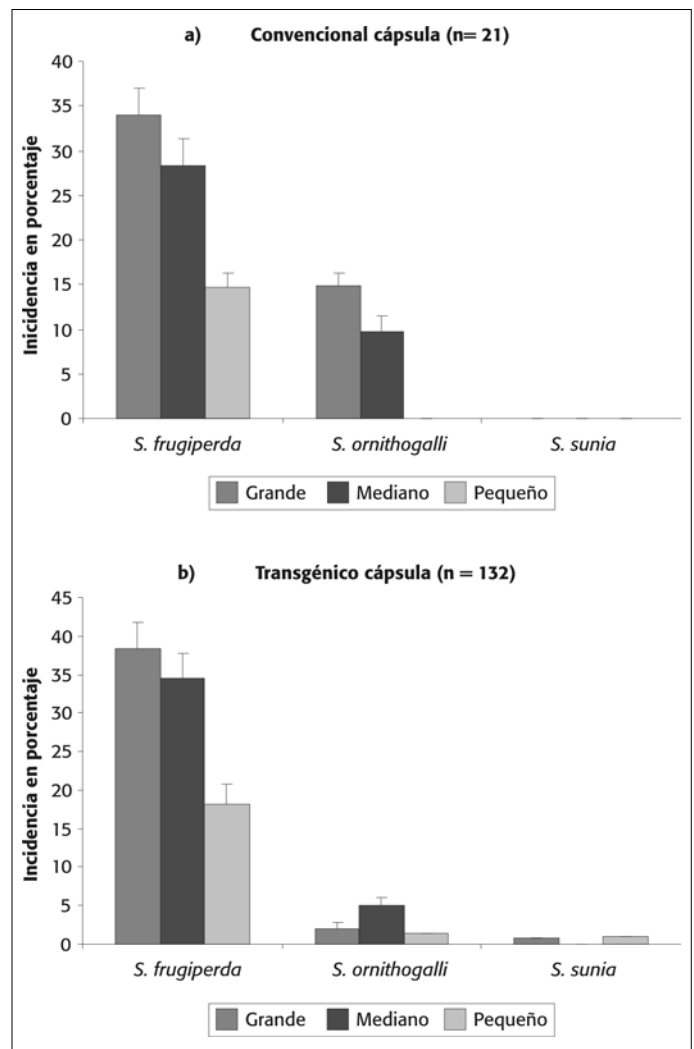
En las flores del algodón transgénico y convencional predominaron las larvas pequeñas de *S. frugiperda*, seguidas de las medianas y grandes. *S. ornithogalli* mantuvo el mismo patrón pero con porcentajes muy bajos (figuras 8a y 8b).



**Figura 8.** Incidencia en porcentaje de larvas por tamaño del complejo *Spodoptera* en flores de algodón convencional (a) y transgénico (b) en el centro del Tolima, semestre A, 2005

En las cápsulas también predominaron las larvas de *S. frugiperda* sobre las otras especies con dominio de larvas grandes y medianas en ambos materiales genéticos (figuras 9a y 9b).

El registro en campo de larvas medianas y grandes en todas las estructuras de algodón transgénico puede ser producto de varios factores. Por un lado, se registra una sobrevivencia natural de larvas del complejo *Spodoptera* superior al 50% en los materiales de algodón con la tecnología Cry1Ac, dentro de la cual está el algodón NuOpal sembrado en Colombia (Adamczyk *et al.* 2001; Adamczyk y Gore, 2004; Díaz y Montenegro, 2003). Por otro lado, la expresión de la toxina Cry1Ac varía en los tejidos con el desarrollo de la planta, y entre las estructuras de la misma (Olsen *et al.*, 2005; Zenner *et al.*, 2008). Greenplate y colaboradores (2000) registraron un aumento en la concentración de la proteína desde el primer nudo hasta el noveno, donde alcanza la máxima concentración, punto a partir del cual empieza a bajar. Se registran concentraciones de 5 ppm en el quinto nudo, 7 ppm en el noveno y llega a 4 ppm en el nudo 17. Estos autores encontraron en los



**Figura 9.** Incidencia (%) por especies del complejo *Spodoptera*, por tamaño de larvas en cápsulas de algodón convencional (a) y transgénico (b) en el centro del Tolima, semestre A, 2005

tejidos terminales, los botones florales y las cápsulas, concentraciones de 22,3; 14,1 y 17,1  $\mu\text{L}$  de Cry1Ac por gramo de peso seco de tejido, respectivamente. Esta variación en las concentraciones puede aumentar las probabilidades de sobrevivencia de las larvas. En Australia, Gore (2001) registró la mortalidad de *Helicoverpa zea* en laboratorio al ser alimentadas con diferentes estructuras de las platas de algodón DP5, Bollgard y Bollgard II de DP50. Con los tres materiales se obtuvo el mismo patrón de sobrevivencia: mínima en brácteas, seguida de los botones florales y de pétalos y máxima en las anteras de los botones y de las flores después de 24, 48 y 72 h de exposición a los tejidos. Con Bollgars II se registraron los porcentajes más bajos de sobrevivencia a las 72 horas: 6% con brácteas, 63% y 50% con anteras de botones y flores.

Finalmente, el comportamiento alimenticio de las larvas del complejo *Spodoptera* y el manejo tecnológico de los cultivos pueden ampliar la ventana de escape que tienen



actualmente las larvas de *S. ornithogally* y *S. frugiperda* en estos materiales. Por un lado, hay un porcentaje no cuantificado de larvas que pasan de las malezas a las plantas de algodón después del segundo instar (Sundbland 1982), etapa en la que las larvas son poco susceptibles a la toxina Cry1Ac. Por otro lado, la preferencia alimenticia de las larvas de *S. frugiperda* por las estructuras que tienen la menor concentración de la toxinas de la planta (flores sin fecundar y cápsulas) potencializan esta ventana de escape.

Los puntos anteriores ayudan a explicar la mayor incidencia de larvas del complejo *Spodoptera* registrada en las plantas transgénicas en la zona del Tolima y permiten identificar los puntos frágiles de esta tecnología y de su manejo. La entrada masiva de un material genético de algodón contra lepidópteros (Bollgard I (Monsanto®) (Cry1Ac) NuOpal) y la poca experiencia de agricultores, asistentes, técnicos e investigadores en el tema exigen un plan de capacitación, seguimiento de plagas y diversificación de materiales genéticos con el fin de reducir riesgos ambientales y económicos. Aunque la segunda generación de semillas de algodón transgénico ya está disponible en otros países y se desarrolló para aumentar la resistencia del algodón al complejo *Spodoptera*, en estos materiales también se registra variabilidad en la expresión de las toxinas y la mortalidad de las larvas no es total (Greenplate *et al.* 2000). La flexibilidad genética de *S. frugiperda* y su preferencia por alimentarse en las estructuras con baja expresión de las toxinas Bt (flores y cápsulas) aumentan los riesgos de desarrollar tolerancia a la nueva generación de algodones transgénicos.

## CONCLUSIONES

Se registró mayor incidencia de las especies del complejo *Spodoptera* en el algodón transgénico que en el convencional y aunque hay varios factores que interactúan para

explicar este resultado, se evidencia el riesgo potencial que tiene este complejo para pasar de plagas secundarias a primarias en algodón Cry1Ac.

Se registró un patrón espacial entre las especies observadas y las estructuras de la planta tanto en los materiales de algodón genéticamente modificados como en los convencionales: *S. frugiperda* predomina en flores y cápsulas, *S. ornithogalli* en hojas y flores y *S. sunia* en hojas.

Se registraron larvas pequeñas, medianas y grandes de todas las especies (*S. frugiperda*., *S. ornithogalli* y *S. sunia*) en flores y cápsulas, estructuras donde la expresión de la endotoxina Cry1Ac es más baja.

La interacción entre la expresión diferencial de toxina Cry1Ac en las estructuras de la planta de algodón NuOpal y los patrones alimenticios de *S. frugiperda* abren una ventana de escape para esta especie a la endotoxina Cry1Ac y aumenta el riesgo de incrementar la tolerancia reportada experimentalmente en Colombia (50%).

La correcta identificación de las larvas y su tamaño, y los patrones alimenticios de cada especie deben tenerse en cuenta en los estudios de seguimiento y evaluación de plagas en algodón genéticamente modificado, así como en la determinación de los umbrales de riesgo de *S. frugiperda* en estos materiales.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a Conalgodón, por financiar éste trabajo, al doctor Guillermo Sánchez Gutiérrez por su orientación; a los 83 agricultores de los municipios de Espinal, Guamo, Flandes y Chicoral que prestaron sus lotes al proyecto y a los técnicos del C.I. Nataima por su apoyo en los muestreos de campo.



## REFERENCIAS

- Adamczyk JR, Adams LC, Hardee DD. 2001. Field efficacy and seasonal Expression profiles for terminal leaves of single and double *Bacillus thuringiensis* toxin cotton genotypes. *Journal of Economic Entomology* 93:1589-1593.
- Adamczyk JR, Gore JJ. 2004. Laboratory and field performance of cotton containing CryIac, CryIf, and both CryIac and CryIf (widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* 87(4):427-432.
- Adamczyk JR, Holloway JJ, Leonard JW, Graves JB. 1997. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. *Journal of Cotton Science* 1 (1): 21-28.
- AGRO-BIO. 2009. Estadísticas de cultivos GM 2008. En: [www.agrobio.org/index.php?option=com\\_content&task=view&id=7350](http://www.agrobio.org/index.php?option=com_content&task=view&id=7350). Consulta marzo de 2009.
- Altieri MA. 2000. The ecological impacts of transgenic crops on agroecosystem health. *Ecosyst. Health* 6:13-23.
- Bachelor JS, Mott DW. 2003. Efficacy of Bollgard II under non-enhanced agronomic conditions in North Carolina. In: *Proceedings, 2003 Beltwide Cotton Conferences, National Cotton Council, Memphis, TN.*
- Beerwinkle KR, López JD, Witz JA, Schleider PG, Eyster RS, Lingren PD. 1994. Seasonal radar and meteorological observations associated with nocturnal insect flight at Altitudes to 900 meters. *Environmental Entomology* 23(3): 676-683 p.
- Berrocal J, Vanderbilt J, Fernandez C, Mejía J. 2005. Determinación de la mortalidad de *Spodoptera frugiperda* e incidencia de su ataque en la pudrición de cápsulas de algodón en el Valle medio del Sinú, En: *Congreso Sociedad Colombiana De Entomología. (32: 2005: Ibagué)*. Resúmenes del XXXII Congreso de Sociedad Colombiana de Entomología. Ibagué, Tolima, Socolen, 2005. 134 p.
- Bohorova N, Cabrera M, Abarca C, Quintero R, Maciel AM, Hoisington RM, Bravo D. 1997. Susceptibility of four tropical lepidopteron maize pests to *Bacillus thuringiensis* Cry1-type insecticidal toxins. *Journal of Economic Entomology* 90(2): 412-415.
- Borrero F, Zenner de Polanía I. 1998. Resistencia potencial de *Spodoptera frugiperda* a *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*. *Manejo integrado de plagas (Costa Rica)* 47: 18-23.
- Corporación Colombia Internacional (CCI). 2007. Resultado del Proceso de Medición de lotes de las siembras de algodón. Región Interior 2007. Bogotá: CCI. Tipo de Semilla Transgénica Región Interior, 2007. 13 p.
- Díaz JA, Montenegro TH. 2003. Evaluación del efecto de la tecnología Bollgard® sobre poblaciones de artrópodos y anélidos en el algodónero (*Gossypium hirsutum* L.). *Boletín técnico. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá.* 57 p.
- Federación Nacional de Algodoneros. 1986. Bases Técnicas para el Cultivo del Algodón en Colombia. 704 p.
- García F, Mosquera MT, Vargas C, Rojas LA. 2002. Control biológico, microbiológico y físico de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) plaga de maíz y otros cultivos en Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 28(1): 53-60.
- Garczynski SF, Crim JW, Adang MJ. 1991. Identification of putative insect brush border membrane-binding molecules specific to *Bacillus thuringiensis* d-endotoxin by protein plot analysis. *Applied Environmental Microbiology* 57(10): 2816-2820.
- Gore J, Leonard BR, Adamczyk JJ. 2001. Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) Survival on 'Bollgard' and 'Bollgard II' cotton flower bud and flower components. *Journal of Economic Entomology* 94(6): 1445-1451. 2001
- Greenplate JT, Penn SR, Mullins JW, Oppenhuizen M. 2000. Seasonal CryIac levels in DP50B: The "Bollgard® basis" for Bollgard II. In: Dugger P, Richter D, editors. *Beltwide Cotton Conference Proceedings*, pp. 1039-1040.
- Instituto Colombiano Agropecuario ICA. 2007. Hectáreas Transgénicas Sembradas en la Región del Interior. En: *Corporación Colombia Internacional CCI. Resultado del Proceso de Medición de Lotes de las Siembras de Algodón. Región Interior 2007*, 13 p.
- International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). 2009. Resumen ejecutivo. Situación mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos / transgénicos en 2008. Consultado en marzo de 2009 en: [www.isaaa.org/resources/publications/briefs/39/executivesummary/pdf/Brief%2039%20-%20Executive%20Summary%20-%20Spanish%20\(Spain\).pdf](http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/39/executivesummary/pdf/Brief%2039%20-%20Executive%20Summary%20-%20Spanish%20(Spain).pdf)
- Keith AL. 1988. Latin America Research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* 71(4): 631-653.
- Martínez H, Espinal CF, Pinzon N, Gomez JT. 2006. Observatorio agrociencias Colombia Informe de coyuntura primer trimestre de 2006. Disponible en Internet:
- Monsanto. 2002. Agricultura España. Seguridad del algodón bollgard® evento 531, genéticamente protegido contra las orugas de las cápsulas. En: <http://www.monsanto.es/Novedad/Cuaderno4.pdf>. Consultado julio de 2007.
- Olsen KM, Daly JD, Finnegan EJ, Majon RJ. 2005. Changes in CryIAC Bt transgenic cotton in response to two environmental factors: temperature and insect damage. *Journal of Economic Entomology* 98(4): 1382-1390.
- Pardo AC, Rodríguez CL, Fernandez P, Tellez RP. 2006. Increased activity of a hybrid Bt toxin against *Spodoptera frugiperda* larvae from a maize field in Cuba. *Biotecnología Aplicada* 23: 236-239.
- Risch JR. 1987. Agriculture Ecology and insect outbreaks. En: *Insect Outbreaks. Barbosa y Schultz Ed. Academic Press, Inc.* 217-233 p.
- Rodríguez M, Aguilar M, Martínez C, Terán V, Lagunes T. 2005. Manejo de la resistencia a la endotoxina CRY1Ac de *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* que expresa el algodón Bollgard En: *Congreso de Sociedad Colombiana de Entomología. Resúmenes del XXXII Congreso de Sociedad Colombiana de Entomología, Ibagué, Tolima: Socolen, 2005.*
- Serrano M. 2007. Reducción en el uso de plaguicidas en el algodónero con el uso de algodón Bt en Colombia. Resúmenes XXXIV Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. 25-27 de julio Cartagena de Indias, Alpha impresores.
- Silva CA. 2005. Algodón genéticamente modificado. *Publicación de Agro-Bio*, 49 p.
- Spark A. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomologist* 62(2): 82-87.
- Stipanovic RD, López JD, Dowd MK, Puckhaber LS, Duke SE. 2008. Effect of racemic, (+)- and (-)- gossypol on survival and development of *Heliothis virescens* larvae. *Environmental Entomology* 37(5): 1081-1085.
- Sundbland C. 1982. *El Algodón. Buenos aires, Albatros*, 6 p.
- Vélez AM, Arango RE, Villanueva D, Aguilera E, Saldamandro CI. 2008. Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares. *Revista Colombiana de Entomología* 34(2): 145-150.
- Westbrook JK, Sparks AN. 1986. The role of atmospheric transport in the economic fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation in the southeastern United States in 1977. *Florida Entomologist* 69(3): 493-502 p.
- Zenner I, Álvarez JA, Arévalo HA, Mejía R, Bayona MA. 2008. Susceptibilidad de cuatro noctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero. *Revista Colombiana de Entomología* 34(1): 41-50.
- Zenner I, Álvarez JA, Mejía R, Bayona MA. 2005. Influencia de la toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* sobre el desarrollo del cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Revista Actualidad & Divulgación Científica* 8(2):129-139. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá.