



Foto: Nicolás Baráibar

# CRÓNICA DEL DAÑO DE LA LAGARTA MEDIDORA (*RACHIPLUSIA NU*) EN SOJA INTACTA®

Biol. MSc. PhD Ximena Cibils<sup>1,2</sup>, Aux. Inv. Alicia Gonzalez<sup>2</sup>,  
Téc. Agr. Mabel Pessio<sup>2</sup>, Asist. Inv. Jr. Pablo Calistro<sup>2</sup>,  
Ing. Agr. MSc. Carlos Rossi<sup>3</sup>,  
Lic. MSc. Mario Giambiasi<sup>4</sup>,  
Ing. Agr. MSc. Willy Chiaravalle<sup>5</sup>,  
Ing. Agr. Dr. Silvana Abbate<sup>6</sup>,  
Ing. Agr. Nicolás Baráibar<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Sistema Agrícola Ganadero-INIA

<sup>2</sup>Entomología-INIA

<sup>3</sup>Semillas-INIA

<sup>4</sup>Biotecnología-INIA

<sup>5</sup>Asesor Privado

<sup>6</sup>CENUR Litoral Norte-EEMAC-Udelar

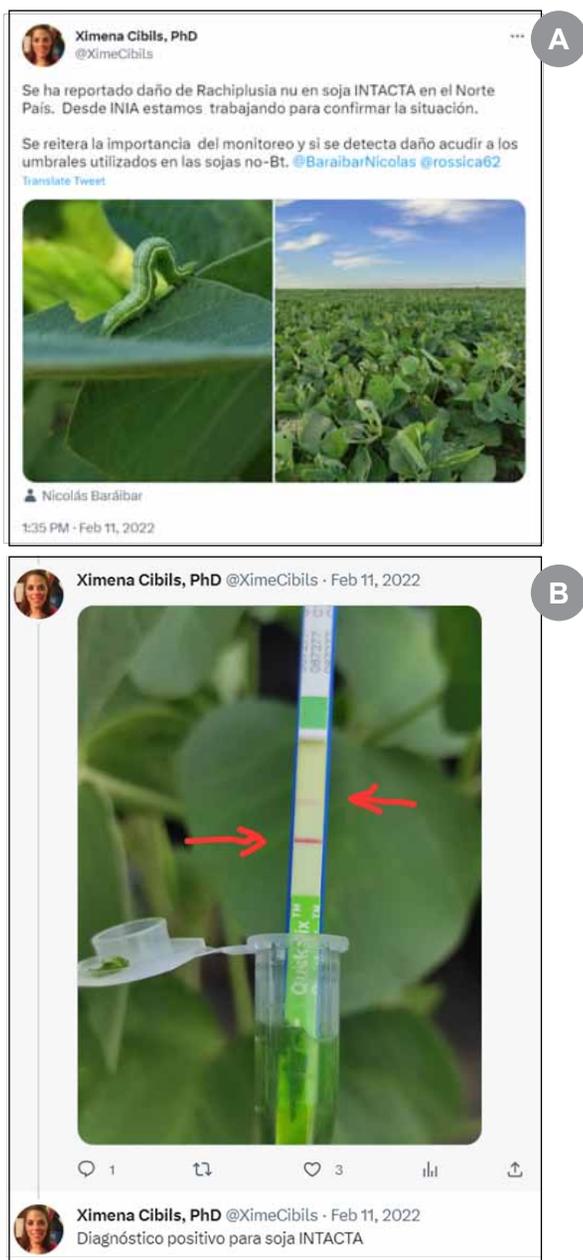
<sup>7</sup>Técnico Sectorial-INIA La Estanzuela

En febrero de la pasada zafra se reportó, en nuestro país, la presencia y el daño de lagartas medidoras (*Rachiplusia nu*) en soja Bt (foto de portada y Figura 1). Se presentan aquí los resultados del trabajo que procuró generar información para clarificar lo sucedido. Se reitera la importancia de siembra de áreas refugio no-Bt, el monitoreo aun en soja Bt y la adopción de los umbrales de daño (UD) establecidos para soja no-Bt en caso de constatar daño (aprox. 30 % de defoliación constantando la presencia de larvas vivas).

## EL COMPLEJO DE LAGARTAS EN SOJA

El cultivo de soja representa más del 80 % de la superficie de cultivos estivales en Uruguay (<sup>1</sup>) y el 8 % del PBI nacional (<sup>2</sup>). Los lepidópteros defoliadores son considerados plaga primaria del cultivo, provocando

pérdida de área foliar, reducción de la intercepción de radiación y capacidad fotosintética, acortando el período de llenado de granos (<sup>3</sup>) y en ocasiones, reduciendo su calidad (<sup>3</sup>). En Uruguay, el complejo de defoliadoras está constituido principalmente por las medidoras (*Rachiplusia nu/Chrysodeixis includens*) y



**Figura 1** - (A) Primer registro del daño de la lagarta medidora (*Rachiplusia nu*) en soja Bt en Uruguay. (B) Confirmación de la presencia de la proteína transgénica Cry1Ac por ELISA (Quickstix, EnviroLogix®, Portland, ME) en tejido vegetal a campo.

*Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Figura 2), las que motivan aplicaciones (4), pues ocasionan pérdidas del rendimiento en caso de no ser controladas (5). Particularmente, *R. nu* es endémica de nuestra zona y está sometida a un importante control natural que le impide normalmente alcanzar los umbrales recomendados (Figura 2C). Debido a que *R. nu* se ubica predominantemente en el estrato medio de la planta de soja, cuando alcanza el UD, su control es errático, ya que es difícil lograr la llegada de la dosis efectiva del insecticida.

Además, es conocida la menor susceptibilidad (tolerancia intrínseca) de ambas medidoras a los insecticidas (ej. piretroides) con respecto a las otras lagartas reportadas en soja (6).

Desde el 2012, en nuestra región, se dispone de variedades comerciales de soja que han sido transformadas para expresar altos niveles de la proteína Cry1Ac (evento MON 87701) de *Bacillus thuringiensis* (Bt) var. *Kurstaki*; nombre comercial Intacta® (7). Dicha tecnología actúa por ingestión; cuando los insectos consumen tejido vegetal, se activa la toxina Cry1Ac, que se une a receptores específicos de las células intestinales formando poros en la membrana, provocando que el contenido estomacal vaya a la hemolinfa, induciendo la muerte por septicemia.

La generación de poblaciones de insectos resistentes es uno de los mayores riesgos que enfrenta esta tecnología. La combinación de cultivos que expresen altas dosis de la proteína Bt y la siembra de áreas refugio (soja no Bt) resultan clave para retrasar este fenómeno, procurando el predominio de individuos susceptibles (7,9). La soja Intacta® está registrada para el control de ambas medidoras, *A. gemmatalis*, epinotia (*Crociosema aporema*) y bolillera (*Helicoverpa armigera*) entre otras (8); las últimas también presentes en nuestro país, pero menos frecuentes en las últimas zafra (9).

El acontecimiento de daño por lagartas medidoras (*R. nu*) en Intacta® no fue solo en Uruguay, también ocurrió en Brasil (7) y Argentina (10) durante la misma zafra. Si bien la evolución de la resistencia de insectos plaga a insecticidas y/o a plantas Bt –de uso recurrente– es un proceso natural que se intensifica a medida que se descuidan las estrategias de manejo integrado, los daños detectados la pasada zafra fueron imprevistos para todos los países de la región. En base a lo expuesto, nuestro objetivo fue evaluar la susceptibilidad de tres poblaciones de *R. nu* recolectadas en soja Intacta® en las principales zonas agrícolas de nuestro país con el objetivo de generar información nacional.

## METODOLOGÍA

Tres poblaciones de *R. nu* recolectadas en soja Intacta® (Figura 1B) que presentaban alta defoliación en Paysandú, Quebracho y Colonia fueron transportadas a INIA La Estanzuela y criadas en el laboratorio de entomología bajo condiciones controladas ( $27 \pm 2$  °C, 14:10 (L/O), 70-75 % HR) con dieta artificial (11).

Con el objetivo de generar información nacional, se evaluó la susceptibilidad de tres poblaciones de *R. nu* recolectadas en chacras comerciales de soja Intacta® en las principales zonas agrícolas de nuestro país.

Foto	Características
 <p>Foto: Sebastián Bogliacino</p>  <p>Foto: Joaquín García</p>  <p>Foto: Silvana Abbate</p>	<p><b><i>Rachiplusia nu</i> – lagarta medidora</b></p> <p>Larva (A): además de los tres pares de patas torácicas presenta solo tres pares de patas en el abdomen (falsas patas), que determinan que se desplace “midiendo”; se presenta en diferentes tonalidades de verde con franjas longitudinales blancas. En sus últimos estadios presenta la parte anterior del cuerpo más angosta que la posterior. La cabeza y patas torácicas pueden ser verdes o negras. Generalmente se alimenta respetando nervaduras. Pupa color castaño (en las hojas). Adulto (B): en descanso dispone sus alas en forma de techo a dos aguas con un penacho de escamas en el dorso del tórax. En el centro de las alas anteriores se distingue una mancha en forma de Y invertida de color plateado. Larvas de <i>R. nu</i> parasitadas (C) por <i>Copidosoma</i> sp., principal controlador natural de la especie.</p>
 <p>Foto: Carlos Bentancourt</p>  <p>Fotos: Silvana Abbate</p>	<p><b><i>Chrysodeixis includens</i> – falsa medidora</b></p> <p>Larva (D): al igual que <i>R. nu</i> cuenta con solo tres pares de falsas patas y presenta la parte del cuerpo posterior engrosada. Puede presentar diferentes tonos de verde con líneas dorsales y laterales blancas. Pupa verde brillante con manchitas marrones (en las hojas). Adulto (E-F): presenta dos manchas plateadas una más grande que la otra. En descanso se dispone en forma de techo a dos aguas y presenta un penacho en la cabeza y otro a inicios del abdomen (no se observan en las fotos).</p>
 <p>Foto: Sebastián Bogliacino</p>  <p>Foto: Sebastián Bogliacino</p>  <p>Foto: Silvana Abbate</p>	<p><b><i>Anticarsia gemmatalis</i> – lagarta de las leguminosas</b></p> <p>Larva (G): además de los tres pares de patas torácicas, presenta cuatro pares de falsas patas y un último par expandido hacia atrás en forma de V. Cabeza amarillenta, más ancha que el cuerpo. El color del cuerpo puede variar desde verde pálido hasta el pardo oscuro, con franjas oscuras alternadas con blanco amarillentas a lo largo del mismo. Se mueve vigorosamente cuando la molestan. Pupa color castaño (en el suelo). Adulto (H): de varios colores: grisácea, morada, parda amarillenta con puntos negros y con una línea oblicua que se observa en ambos pares de alas. En descanso dispone sus alas paralelas al suelo. Larva de <i>A. gemmatalis</i> afectada por el hongo entomopatógeno <i>Nomurae rileyi</i> (I), principal controlador natural de la especie cuando las condiciones ambientales son predisponentes.</p>
 <p>Foto: Silvana Abbate</p>  <p>Foto: Silvana Abbate</p>	<p><b><i>Spodoptera cosmiodes</i> – lagarta militar de las solanáceas</b></p> <p>Larva (J): color pardo oscuro y generalmente presenta manchas triangulares negras en el resto del cuerpo. Con finos puntos blancos y líneas longitudinales anaranjadas en todo el cuerpo. De aspecto aterciopelado y mucho más robusto que las especies anteriores. Presenta una “joroba” hacia el final del tórax de color oscuro y dos franjas oscuras en las extremidades del abdomen. Cabeza anaranjada de menor proporción que el resto del cuerpo. Pupa: Castaño oscura (en el suelo) Adulto (K): alas pardas con diferentes patrones según sexo y posteriores blancas con reflejos violáceos.</p>

**Figura 2** - Complejo de lagartas defoliadoras en soja en nuestro país con sus respectivos caracteres para una fácil identificación a campo. Es muy difícil diferenciar a campo las larvas de ambas medidoras (A y D), ambas prefieren el estrato medio del canopeo y se desplazan “midiendo”. Bajo lupa, *R. un* (A) tiene el cuerpo cubierto con abundantes microespinas y *C. includens* (D) presenta protuberancias en la cara interna de la mandíbula.

El acontecimiento de daño por lagartas medidoras (*R. nu*) en Intacta® no ocurrió solo en Uruguay, también en Brasil y Argentina durante la misma zafra.

De forma individual, ejemplares (larvas y adultos) de cada localidad fueron enviados a INIA Salto Grande para constatar la identificación de la especie, mediante técnicas moleculares (*barcoding* según la región COI <sup>(12)</sup>).

Luego de tres generaciones en el laboratorio, cada población se sometió a dos tratamientos: (1) soja Intacta® (Bt) y (2) soja convencional (no-Bt). Se realizaron diez repeticiones de una lagarta por tratamiento (2 tratamientos X 10 lagartas x 3 poblaciones= 60 total). Para iniciar, se seleccionaron larvas L3 que fueron sometidas a un ayuno previo de 24 horas, y luego pesadas antes de ser asignadas al azar a cajas de Petri. Cada caja contenía una hoja previamente pesada de la soja correspondiente. La prueba de ELISA (Quickstix; Figura 1B) fue utilizada para confirmar el estatus Bt o no-Bt de cada planta (mantenidas en invernáculo) previo a ser utilizada en el bioensayo. Diariamente se evaluó la sobrevivencia de cada larva y, en caso de estar viva, se registró el peso de: larva, heces (excremento), rechazo (hoja no consumida) y oferta (hoja nueva).

Utilizando dichas variables se calcularon la eficiencia de crecimiento y utilización de alimentos <sup>(13)</sup>:

- Tasa de crecimiento relativa (RGR): ganancia de peso de la larva/(peso inicial x duración del bioensayo en días). RGR calcula el crecimiento de la masa corporal en relación con la masa corporal inicial.

- Eficiencia de conversión de alimentos ingeridos (ECI): (ganancia de peso de la larva/(masa inicial-masa final consumida))\*10. ECI estima el porcentaje de alimentos ingeridos que se convirtió en masa corporal; también denominada eficiencia de crecimiento.

- Digestibilidad aproximada (AD): ((masa inicial-masa final consumida)-heces))\*10. AD estima el porcentaje de alimentos ingeridos que se digiere y asimila; también denominada eficiencia de absorción.

- Eficiencia de conversión de alimento digerido (ECD): (ECI-heces)\*10. ECD estima el porcentaje de alimentos asimilados que se convierte en masa corporal; también denominada eficiencia metabólica.

- Consumo relativo (RC): (masa inicial-masa final consumida)/ masa corporal diaria. RC estima la masa de alimentos ingeridos durante 24 horas en relación con la masa corporal inicial.

Por último, se determinó el porcentaje de daño foliar de los tratamientos para cada población, empleando el programa BioLeaf-Foliar Analysis™ para el día 15 del ensayo. Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico R.

## RESULTADOS

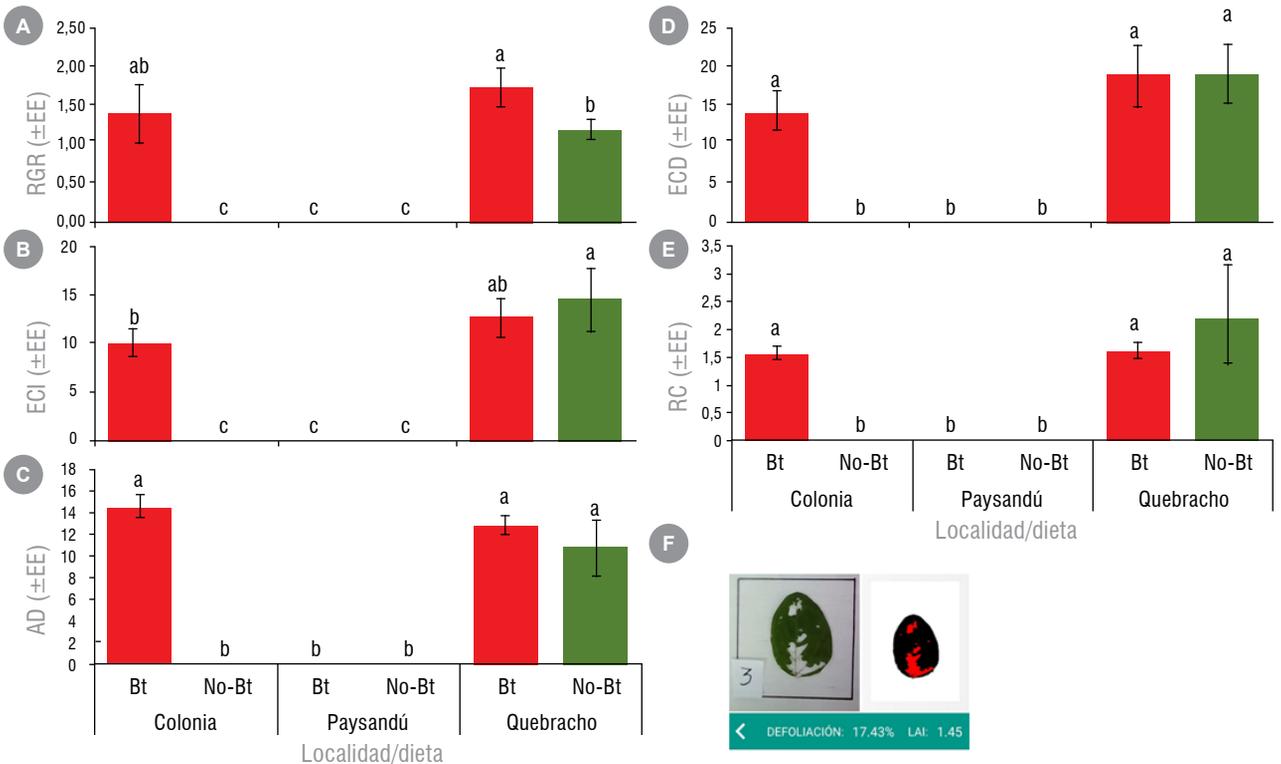
- El análisis *barcoding* determinó que el ADN de las lagartas locales (tres zonas) tuvo una coincidencia de nucleótidos del 100 % con secuencias de lagartas minadoras *R. nu* de diferentes partes del mundo.

- Se detectó un gradiente de sobrevivencia a la soja Bt, donde las larvas de la población de Quebracho sobrevivieron un 100 %, la población de Colonia un 33 % y, por último, las de Paysandú con un 10 % de supervivencia en la dieta Bt (Cuadro 1).

- Un gradiente similar se detectó en la sobrevivencia de las poblaciones en la soja no Bt, donde las poblaciones de Quebracho sobrevivieron un 50 %, las de Colonia un 10 %, y por último las de Paysandú que presentaron nula sobrevivencia (Cuadro 1).

**Cuadro 1** - Supervivencia larval y % de defoliación de las tres poblaciones de *R. nu* sometidas durante todo su período larval a las siguientes dos dietas: soja Intacta® (Bt-rojo) y soja convencional (no-Bt-verde). Letras distintas señalan diferencias significativas entre tratamientos (Test LSD, p<0,05).

Zona de colecta	Tratamiento	% Supervivencia	% Defoliación
Colonia	Bt	33 % b	1,7 % c
	No-Bt	10 % c	8,9 % b
Paysandú	Bt	10 % c	1,2 % c
	No-Bt	0 % c	0,8 % c
Quebracho	Bt	100 % a	35,7 % a
	No-Bt	50 % b	10,4 % b



**Figura 3** - (A) Tasa de crecimiento relativa (RGR), (B) eficiencia de conversión de alimento ingerido (ECI), (C) digestibilidad aproximada (AD), (D) eficiencia de conversión de alimento digerido (ECD), y (E) consumo relativo (RC) de larvas de *R. nu* de las tres distintas poblaciones (Colonia, Paysandú y Quebracho) que fueron sometidas durante todo su período larval a las siguientes dietas: soja Intacta® (Bt-rojo) y soja convencional (no-Bt-verde). Letras distintas señalan diferencias significativas (Test LSD,  $p < 0,05$ ). (F) ejemplo del cálculo de defoliación.

• Los elevados valores de mortalidad registrados, en los dos tratamientos evaluados, podrían estar asociados a que las larvas utilizadas fueron logradas a partir de individuos provenientes de soja Bt a campo (no contamos con poblaciones provenientes de soja no Bt). En este sentido, es probable que exista un efecto negativo en el *fitness* de los individuos y posiblemente en su descendencia generada a partir de individuos criados parcialmente con soja Bt. Otros factores también podrían estar implicados asociados, por ejemplo, la falta de variedades comerciales isogénicas con y sin el evento transgénico que codifica la proteína Cry1Ac (Intacta®) en el bioensayo aquí presentado.

• Todas las medidas de eficiencia de crecimiento y utilización de alimentos calculadas fueron más altas

para la población de Quebracho, seguidas por la de Colonia expuesta a la soja Bt y, por último, las de Colonia (no Bt) y ambas de Paysandú (Figura 3); esto se ve reflejado además en los porcentajes de defoliación medidos el día 15 del ensayo (Cuadro 1; Figura 3F).

## CONSIDERACIONES FINALES

Los resultados obtenidos evidencian un cambio en la susceptibilidad en las poblaciones evaluadas (*R. nu*) a la soja que expresa la proteína Cry1Ac (Intacta®) en nuestro país, constatándose además diferencias según el origen de las larvas. Todas las poblaciones utilizadas se obtuvieron de soja Bt lo que podría explicar los resultados de mayor mortalidad de las larvas testigos (soja No Bt), que estuvieron sometidas a la proteína Bt previo a la colecta. Es necesario realizar nuevos trabajos que incluyan poblaciones susceptibles para poder discernir los efectos de la proteína Bt en la descendencia de las poblaciones.

La necesidad de generar información nacional también se vio reflejada en los resultados de una encuesta nacional realizada por INIA y la EEMAC, al finalizar la pasada zafra, en la que el 66,7 % de los participantes (productores 16 % y técnicos 84 %) consideraron que las problemáticas de lepidópteros defoliadores en soja fueron mayores en la zafra 2021-22.

Los resultados obtenidos evidencian un cambio en la susceptibilidad de la lagarta medidora (*R. nu*) a la soja que expresa la proteína Cry1Ac (Intacta®) en nuestro país, constatándose además diferencias según el origen de las larvas.

En una encuesta nacional realizada por INIA y la EEMAC, al finalizar la pasada zafra, el 66,7 % de los participantes consideraron que las problemáticas de lepidópteros defoliadores en soja fueron mayores en la zafra 2021-22.

Reportando de una a tres aplicaciones para el control de lagartas, mencionando fallas de control tanto de insecticidas como de la tecnología Intacta®. Además, recientemente, Brasil confirmó la alteración genética en la susceptibilidad a Cry1Ac no solo en *R. nu* sino también en *C. aporema*; mientras que, la proteína Cry1Ac en soja sigue siendo eficaz para el control de *Anticarsia gemmatalis*, *Helicoverpa armigera* y *Chrysodeixis includens* (7).

Se remarcan los siguientes puntos de importancia para el buen uso de la tecnología Intacta® en soja, para así retardar la evolución de la resistencia debido al uso recurrente de la tecnología:

- Siembra de refugio no-Bt: permite que los insectos susceptibles puedan reproducirse y mantener una población, y así diluir la probabilidad de generación de insectos "resistentes" sobrevivientes.

Brindando además otro servicio ecosistémico debido a que provee predadores tal como fue constatado para nuestro país (14).

- Monitoreos con Paño Vertical recurrentes y siguiendo los umbrales de acción de cada especie (Figura 2); tanto en el refugio como en la soja Bt teniendo en cuenta el control natural especialmente para *R. nu*.

- Si amerita por el UD, se recomienda el control químico procurando la rotación de insecticidas, priorizando siempre los selectivos para minimizar el impacto en los organismos no blanco. Nótese que el control biológico también es una herramienta complementaria a la tecnología Bt ya que los enemigos naturales no discriminan entre lagartas susceptible o resistentes al Bt.

#### REFERENCIAS

- 1 - MGAP. DGSA. 2019. Importaciones de agroquímicos. División Control de Insumos.
- 2 - Uruguay XXI, 2021. Informa anual de comercio exterior.
- 3 - Raza *et al.* 2021. *Plants*, 10(8), 1497.
- 4 - Blanco *et al.* 2016. *Current opinion in insect science*, 15, 131-138.
- 5 - Cazado *et al.* 2019. *Publ. Espec. EEAOC* (52):134-142.
- 6 - Casmuz *et al.* 2013 *Publicación Especial EEAOC* 47, pp. 151-157
- 7 - Horikoshi *et al.* 2021. *Scientific reports*. 11:21323.
- 8 - Intacta RR2 PRO. <https://www.intactarr2pro.uy/es-uy/practicas-de-manejo/control-plagas.html>
- 9 - Castiglioni *et al.* 2016. *Agrociencia* 20(1):31-35.
- 10 - Vera *et al.* 2022. Susceptibilidad de *Rachiplusia nu* (Lepi.: Noctuidae) a soja Bt. D2 INTA.
- 11 - Barrionuevo *et al.* 2012. *Florida Entomologist*, 95(4), 944-951.
- 12 - Magoga *et al.* 2022. *Database* 2022: baac055.
- 13 - Massey *et al.* 2009. *Journal of Animal Ecology*. 78:281-291
- 14 - Abbate *et al.* 2022. *Journal of Pest Science*, 1-15.



Foto: Nicolás Baráibar

**Figura 4** - Lagarta medidora (*R. nu*) sobre planta de soja Intacta®.