



La oruga medidora *Rachiplusia nu* desafíos y perspectivas del fenómeno de resistencia de esta especie a la soja Bt

D2

Campana 2022/2023

Suárez, Lourdes L.¹⁻²; Augusto S. Casmuz.¹; Martín A. Vera¹; Ignacio Romero¹; Cristián M. Medrano¹; Emmanuel Cejas Marchi¹; José A. Giménez Sardi¹; Pablo Álvarez Paz¹; Nicolás Campero¹; Gerardo A. Gastaminza¹; Franco S. Scalora¹; Mario R. Devani¹⁻² y María G. Murúa³.

¹ Estación Experimental Agroindustrial Obispo, EEAOC. Av. William Cross 3150, (4101), Las Talitas, Tucumán, Argentina.

² Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Av. William Cross 3150, Las Talitas 4001, Tucumán, Argentina.

³ Instituto de Bioprospección y Fisiología Vegetal (INBIOFM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Tucumán (UNT), San Lorenzo 1469, San Miguel de Tucumán (4000), Tucumán, Argentina. E-mail: lsuarez@eeaoc.org.ar

Introducción

Desde el año 2012 se dispone de la soja Bt, representada por variedades que combinan los eventos de transformación MON 89788 (expresa la proteína CP4 EPSPS que otorga tolerancia al glifosato) y MON 87701 (que expresa la proteína Cry1Ac). Este último evento controla las plagas lepidópteras primarias del cultivo como *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lep.: Noctuidae), *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lep.: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lep.: Noctuidae) y *Helicoverpa gelotopoeon* (Dyar) (Lep.: Noctuidae) (Argenbio, 2023). En el 2016 se aprobó el primer evento apilado para el control de lepidópteros en soja (DAS-81419-2), comercializado a partir del año 2022 y que combina las proteínas Cry1Ac + Cry1F. Este evento también controla las plagas primarias mencionadas anteriormente a excepción de *Rachiplusia nu* (Argenbio, 2023).

La principal preocupación respecto al uso de esta tecnología es la aparición de la resistencia a las endotoxinas Bt, ya que el uso masivo de esta

tecnología ejerce una alta presión de selección en la población de los insectos blanco si no se realiza un manejo adecuado de la soja Bt (Murúa *et al.*, 2018). Es importante mencionar que en 2017, en la Argentina se detectó un cambio en la susceptibilidad de una población de *R. nu* en condiciones de laboratorio (Vera *et al.*, 2018). En el año 2021, en Brasil se reportó la resistencia de poblaciones de esta especie en soja Bt (Cry1Ac) (Nardon *et al.*, 2021) y en el 2022 se confirmó cambios de la susceptibilidad de *R. nu* a la proteína Cry1AC que expresa la soja Bt en diferentes regiones de Argentina (Vera *et al.*, 2022).

En base a lo expuesto y considerando la reciente liberación comercial del nuevo evento apilado en soja (Cry1Ac + Cry1F), se propone evaluar aspectos comportamentales de *R. nu* como su dinámica poblacional, la capacidad de daño en la soja Bt y las estrategias para el manejo químico de esta especie.

■ Materiales y métodos

Dinámica poblacional de *Rachiplusia nu* en soja con tecnología Bt (*Cry1Ac*)

Los estudios de la dinámica poblacional de *R. nu* en soja Bt (*Cry1Ac*) se llevaron a cabo durante las campañas 2021/22 y 2022/23 en dos localidades ubicadas al noreste y al sur de la provincia de Tucumán (Tabla 1). En sectores donde no se aplicaron insecticidas se monitorearon ocho metros lineales de cultivo, con paño vertical y con una frecuencia semanal desde el estado fenológico V3 hasta R7 (Fehr and Caviness, 1977), registrando el número de larvas de *R. nu* por metro lineal de cultivo.

Tabla 1. Localidad, campaña, fecha de siembra y variedad del cultivo de soja sobre la cual se evaluó la dinámica poblacional de *R. nu*.

Localidad Dpto	Coordenadas	Campaña	Fecha de Siembra	Variedad
San Agustín Cruz Alta (Noroeste)	latitud: -26,822663° longitud: -65,859782°	2021/22	16/12/2021	DM 60i62 IPRO
	latitud: -26,822287° longitud: -64,858660°	2022/23	16/12/2022	DM 60i62 IPRO
Casas Viejas La Cocha (Sur)	latitud: -27,773471° longitud: -65,482224°	2021/22	9/12/2021	AW 6211 IPRO
	latitud: -27,759561° longitud: -65,477812°	2022/23	6/12/2022	M 6410 IPRO

■ Daño foliar y supervivencia larval de *Rachiplusia nu* en laboratorio

Durante la campaña 2021/22 se trabajó con dos poblaciones de *R. nu*; la población susceptible (SS) se recolectó en soja no Bt y la población resistente (RR), sobre un cultivo de soja Bt que expresaba la proteína *Cry1Ac*. En la campaña 2022/23 se trabajó con tres poblaciones de *R. nu*; la población SS recolectada en la campaña anterior, una RR recolectada en soja Bt (*Cry1Ac*) en el 2022/23 y la tercera, sobre soja Bt con evento apilado (*Cry1Ac* + *Cry1F*), que presentó cambio de susceptibilidad (CS) a esta tecnología. En ambas campañas las poblaciones de *R. nu* fueron recolectadas en estado de larva. En todos los casos, al momento de recolectar las larvas se determinó la presencia de expresión de la proteína *Cry1Ac* y *Cry1F* de los folíolos con pruebas inmonocromatográficas en tiras de flujo lateral para organismos genéticamente modificados OGM (EnviroLogix®).

Todas la larvas recolectadas fueron llevadas a laboratorio y aisladas bajo condiciones controladas (27 ± 2 °C, 70-75% de humedad relativa, fotoperíodo 14:10 h L:D). El material obtenido fue criado durante una generación hasta la realización de los ensayos.

Los ensayos se realizaron utilizando 60 larvas del estadio L1. La población SS fue alimentada con folíolos de soja no Bt, la población RR con folíolos de soja Bt que expresaba la proteína *Cry1Ac* y la población CS, con folíolos de soja Bt con evento apilado (*Cry1Ac* + *Cry1F*). Cada una de las larvas fueron colocadas individualmente en cajas de Petri estériles que contenían un folíolo de soja con base agar-agar, papel filtro humedecido y selladas herméticamente con film plástico para evitar la deshidratación.

Los parámetros evaluados fueron el porcentaje de daño foliar ocasionado por las larvas de *R. nu* a los 7 y 14 días después de la infestación (DDI), empleando el programa BioLeaf - Foliar Analysis™, y el porcentaje de supervivencia larval a los 14 DDI. Para este último, se calculó el porcentaje de mortalidad con la fórmula de Abbott (1925) y posteriormente se determinó dicho parámetro según lo detallado a continuación.

$$\% \text{ Mortalidad (Abbott, 1925)} = \frac{N^{\circ} \text{ larvas vivas 0 DDI} - N^{\circ} \text{ larvas vivas 14 DDI}}{N^{\circ} \text{ larvas vivas 0 DDI}} \times 100$$

$$\text{Supervivencia (\%)} = 100 - \% \text{ Mortalidad (Abbott, 1925)}$$

Para el análisis de los datos se empleó el programa Infostat y se realizó un ANOVA, comparándose las medias con el método LSD ($p < 0,05$).

■ Estrategia de manejo químico de *Rachiplusia nu*

Se trabajó con una población de *R. nu* susceptible (SS) y una resistente (RR) a la soja Bt que expresa la proteína *Cry1Ac*. Larvas de la población SS fueron colocadas sobre plantas de soja no Bt, correspondiente a la variedad RA 655; y las larvas RR, sobre soja Bt que expresa la proteína *Cry1Ac* de la variedad DM 60i62 IPRO.

En cada población de *R. nu* se evaluaron los siguientes tratamientos:

- 1 Testigo, sin aplicación de insecticida.

- 2 Clorfantriliprole 20% SC 30 cm₃ pc/ha.
- 3 Clorfantriliprole 20% SC 50 cm₃ pc/ha.
- 4 Clorfluazuron 5% EC 200 cm₃ pc/ha.
- 5 Tiametoxam 14,1% + lambdacialotrina 10,6% ZC 200 cm₃ pc/ha

En cada población de *R. nu* (SS y RR), los tratamientos estuvieron representados por cuatro repeticiones de dos plantas de soja cada una (ocho plantas de soja por tratamiento). En cada planta, sobre una hoja trifoliada, se colocaron cinco larvas del estadio L3 de *R. nu* (40 larvas L3 por tratamiento), realizándose inmediatamente la aplicación de los insecticidas con mochila experimental de CO₂. Después de la aplicación, se extrajeron las hojas con las cinco larvas y fueron colocadas en una caja de Petri con base de agar-agar, papel de filtro humedecido y sellada herméticamente para evitar su deshidratación hasta su evaluación. A los once días después de la aplicación (DDA), se

realizó una segunda infestación, con cinco larvas del estadio L1 de *R. nu*, sobre una hoja trifoliada de cada planta (40 larvas L1 por tratamiento). Estas hojas infestadas fueron colocadas en cajas de Petri como lo detallado anteriormente.

La evaluación correspondiente a la primera infestación, con larvas L3 de *R. nu*, se realizó a los 5 DDA, con el objeto de evaluar la capacidad de control de los insecticidas. La correspondiente a la segunda infestación, con larvas L1 de *R. nu*, se evaluó a los 18 DDA, para determinar la persistencia de control de las alternativas evaluadas en el ensayo.

En cada evaluación (5 y 18 DDA) se determinó la eficacia de control, partir del empleo de la fórmula de Abbot, (1925) y el porcentaje de daño foliar, empleando el programa BioLeaf - Foliar Analysis™.

Resultados

Dinámica poblacional de *Rachiplusia nu* en soja Bt

En la localidad de San Agustín, durante la campaña 2021/22 se observaron larvas de *R. nu* en soja Bt (Cry1Ac) desde el mes de marzo en adelante, coincidiendo con el estado fenológico R5, y con valores promedio que alcanzaron 0,5 larvas por metro lineal de cultivo. En la campaña 2022/23, la ocurrencia

de *R. nu* se anticipó, observándose larvas desde fines de enero, coincidiendo con las etapas reproductivas iniciales de la soja (R1). En esta última campaña, los máximos valores se registraron en el mes de marzo, con un máximo de 1,3 larvas por metro lineal de cultivo (Figura 1).

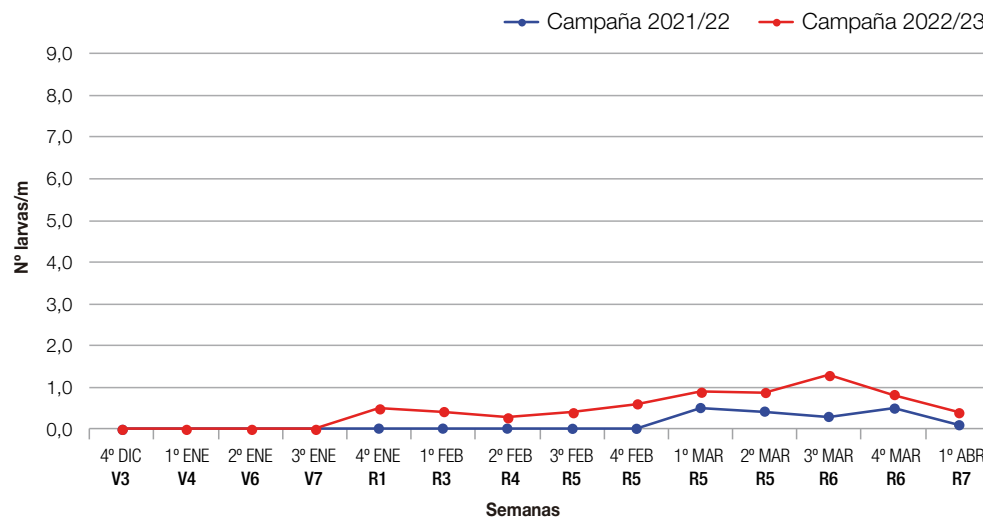


Figura 1. Número de larvas de *Rachiplusia nu* por metro lineal según fecha de muestreo en la soja Bt. San Agustín, Tucumán. Campañas 2021/2022 y 2022/2023.

En la localidad de La Cocha, durante la campaña 2021/22, se observaron larvas de *R. nu* en soja Bt (Cry1Ac) desde el mes de marzo en adelante, coincidiendo con el estado fenológico R5, alcanzando un valor máximo de 1 larva por metro lineal de cultivo en la segunda semana de

dicho mes (Figura 2). En la campaña 2022/23 se anticipó la ocurrencia de larvas de *R. nu*, observándose desde la última semana de enero en adelante, con picos en el mes de marzo que oscilaron entre tres y ocho larvas de *R. nu* por metro lineal de cultivo (Figura 2).

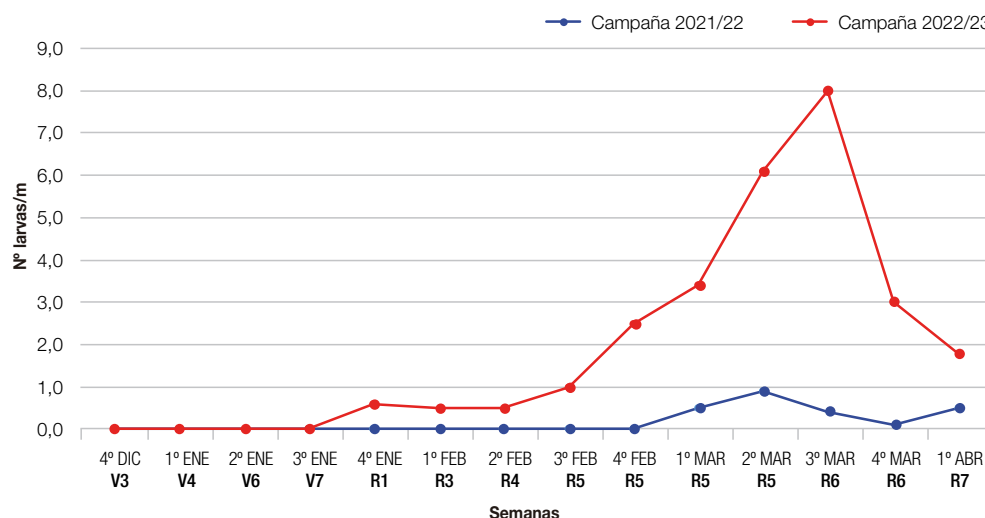


Figura 2. Número de larvas de *Rachiplusia nu* por metro lineal según fecha de muestreo en la soja Bt. La Cocha, Tucumán. Campañas 2021/2022 y 2022/2023.

■ Daño foliar y supervivencia larval de *Rachiplusia nu* en laboratorio

Durante la campaña 2021/22, el daño foliar ocasionado por las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt a los 7 y 14 DDI fue significativamente superior al registrado en la población RR sobre soja Bt (Cry1Ac), como se detalla en la Figura 3.

En la campaña 2022/23 se observaron diferencias significativas en el daño foliar determinado a los 7 DDI en las poblaciones de *R. nu* analizadas (Figura 3). A los 14 DDI no se registraron diferencias de significancia en la defoliación causada por las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt y las larvas RR en la soja Bt que expresa la proteína Cry1Ac (Figura 3).

Ambas poblaciones alcanzaron un daño foliar superior al 90%, diferenciándose estadísticamente

del daño causado por la población CS sometida a soja Bt, con evento apilado (Cry1Ac + Cry1F), como se detalla en la Figura 3.

En la campaña 2021/22 no se registraron diferencias significativas en la supervivencia alcanzada por las poblaciones de *R. nu* SS en soja no Bt y las RR en soja Bt (Cry1Ac), como se detalla en la Figura 4.

En la campaña 2022/23, las poblaciones de *R. nu* SS en soja no Bt y las RR en soja Bt (Cry1Ac) presentaron una supervivencia superior al 90%, diferenciándose estadísticamente de la población CS sometida a soja Bt, con evento apilado (Cry1Ac + Cry1F), como se detalla en la Figura 4.

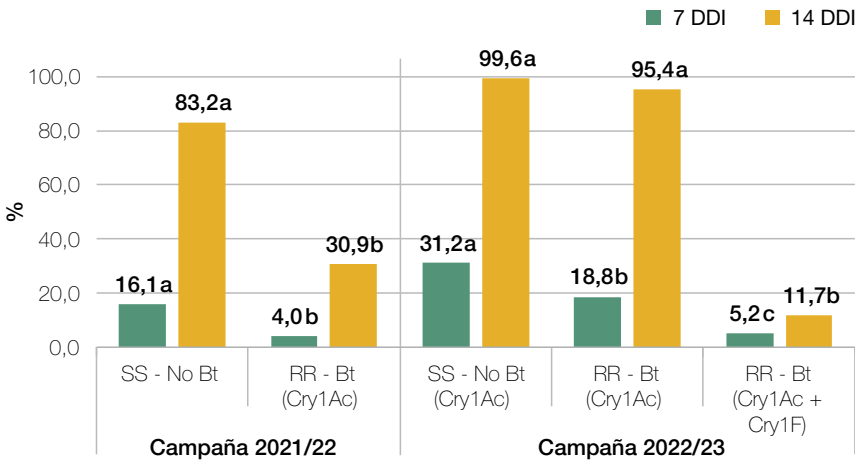


Figura 3. Porcentaje de daño foliar determinado a los 7 y 14 días después de la infestación (DDI). Larvas de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt, las RR en soja Bt con único evento (Cry1Ac) y las CS en soja con dos eventos (Cry1Ac + Cry1F). Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, $p < 0,05$). Campañas 2021/22 y 2022/23.

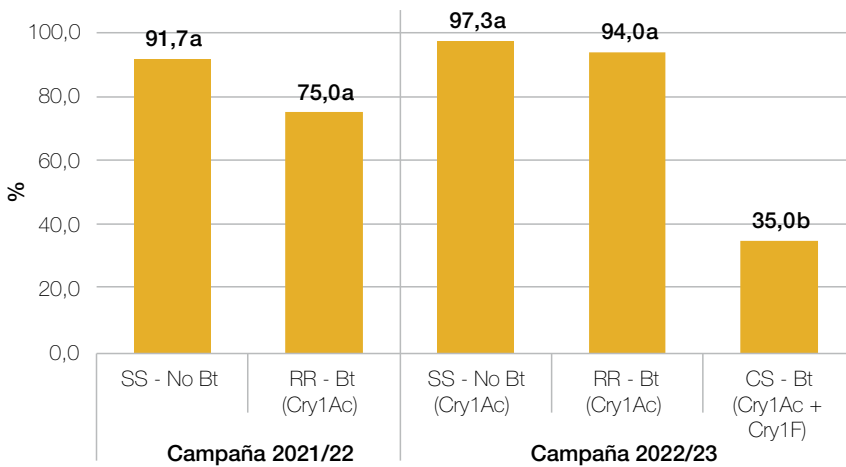


Figura 4. Porcentaje de supervivencia larval de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt las RR en soja Bt con nico evento (Cry1Ac) y la soja Bt con dos eventos (Cry1Ac + Cry1F). Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, $p < 0,05$). Campañas 2021/22 y 2022/23.

Estrategia de manejo químico de *Rachiplusia nu*

En la evaluación de los cinco días después de la aplicación (DDA), correspondiente a la primera infestación con larvas L3, todos los tratamientos evidenciaron niveles de control superiores al 90% sobre las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt y las RR en soja Bt (Figura 5). En esta lectura, las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt y las larvas RR en la soja Bt de los testigos causaron una defoliación significativamente superior a la determinada en los tratamientos químicos (Figura 6).

En la lectura de los 18 DDA, correspondiente a la segunda infestación con larvas L1, clorraniliprole 50 cm₃ pc/ha y clorfluazuron tuvieron controles significativamente superiores en comparación al resto de los tratamientos químicos, con eficacias mayores sobre las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt (Figura 7). En esta evaluación, las larvas de *R. nu* SS en soja no Bt y las larvas RR en la soja Bt del testigo causaron una defoliación menor al 3%, diferenciándose estadísticamente de los tratamientos químicos (Figura 8).

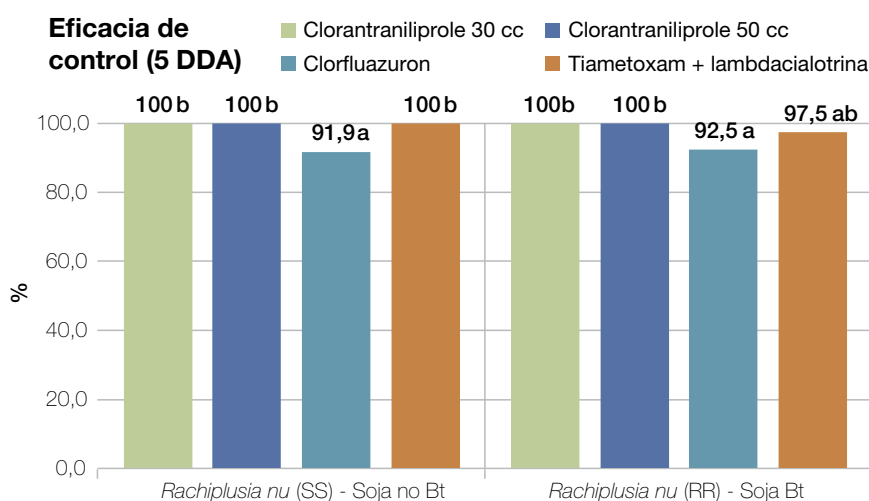


Figura 5. Porcentaje de eficacia de control (Abbot) según tratamiento a los cinco días después de la aplicación (DDA). Larvas L3 de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt y las RR en soja Bt. Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, p<0,05).

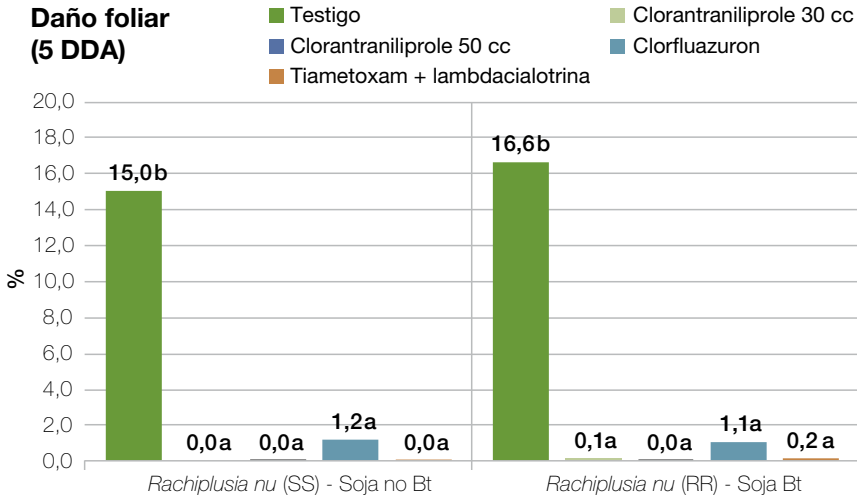


Figura 6. Porcentaje de daño foliar según tratamiento determinado a los cinco días después de la aplicación (DDA). Larvas L3 de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt y las RR en soja Bt. Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, $p < 0,05$).

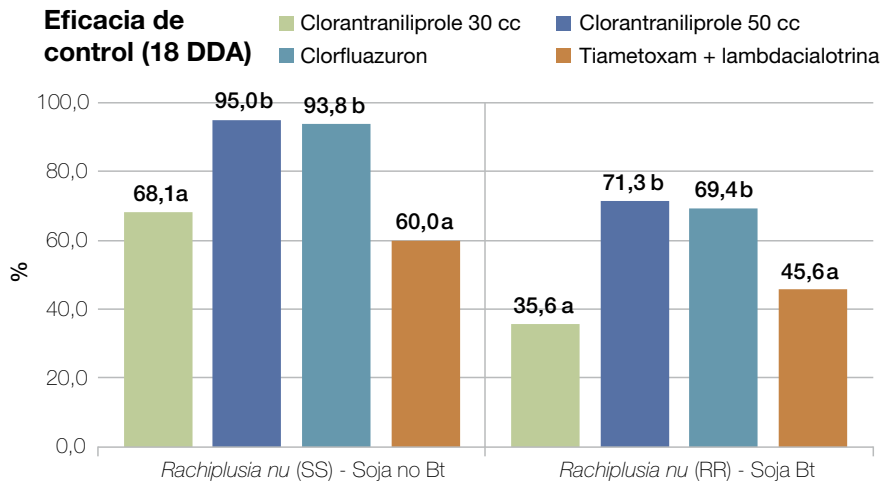


Figura 7. Porcentaje de eficacia de control (Abbot) según tratamiento a los 18 días después de la aplicación (DDA). Larvas L1 de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt y las RR en soja Bt. Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, $p < 0,05$).

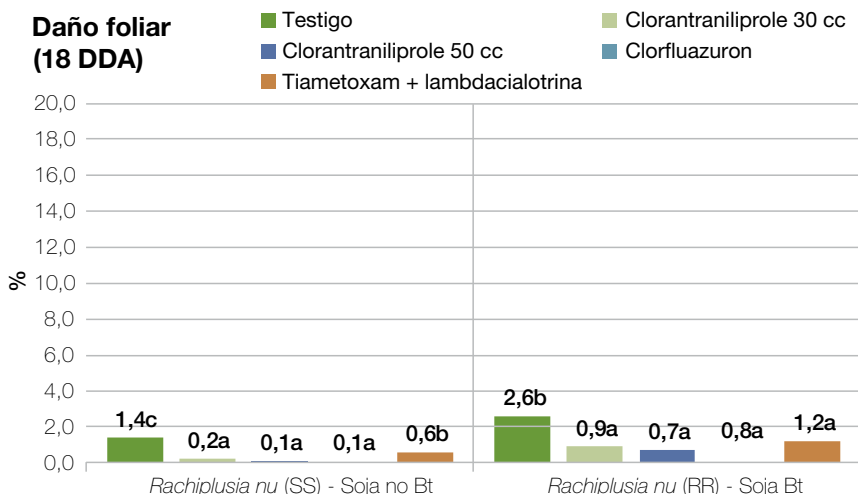


Figura 8. Porcentaje de daño foliar según tratamiento determinado a los 18 días después de la aplicación (DDA). Larvas L1 de *Rachiplusia nu* de las poblaciones de SS en soja no Bt y las RR en soja Bt. Letras distintas indican diferencias significativas (Test LSD, $p < 0,05$).

■ Consideraciones finales

Al comparar la dinámica de *Rachiplusia nu* en soja Bt (Cry1Ac), se observó una ocurrencia más temprana y con valores más elevados de esta especie en la campaña 2022/23 para las localidades analizadas.

Las larvas de *Rachiplusia nu* de la campaña 2022/23 produjeron mayor defoliación en la soja Bt (Cry1Ac), con una supervivencia más elevada en comparación a las larvas de la campaña 2021/22.

En soja Bt con evento apilado (Cry1Ac + Cry1F), las larvas de *Rachiplusia nu* mostraron una supervivencia del 35%, alcanzando niveles de defoliación del 11,7%; estos valores fueron menores a los determinados en soja Bt con un único evento (Cry1Ac). Sin embargo, por antecedentes en otras especies, sería necesario profundizar en estudios de heredabilidad y dosis respuesta para determinar si se trataría de un caso de resistencia cruzada a las proteínas Cry1Ac + Cry1F.

Todas las estrategias de control químico mostraron eficacias de control superiores al 90% sobre las larvas de *Rachiplusia nu* que estuvieron expuestas a la aplicación, minimizando el daño ocasionado en la soja no Bt y Bt.

A los 18 días después de la aplicación, clorantraniliprole en dosis de 50 cm³ pc/ha y clorfluazuron fueron los tratamientos que evidenciaron una mayor persistencia de control sobre las larvas de *Rachiplusia nu* que no estuvieron expuestas a la aplicación, evidenciando controles mayores sobre *Rachiplusia nu* SS sometidas a soja no Bt.

La resistencia de *Rachiplusia nu* a la soja Bt y los daños observados de una campaña a otra modifican el escenario actual de plagas en el cultivo. Esta situación involucra nuevos desafíos que deben ser abordados de manera integral, con la premisa de proteger las tecnologías disponibles en la actualidad para el manejo de plagas en el cultivo de soja e incorporar otras herramientas para su control en el cultivo.

Bibliografía citada

- Abbott, W. S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265 – 267.
- Argenbio. 2023.** Cultivos transgénicos aprobados en la Argentina. Disponible: <https://www.argenbio.org/cultivos-transgenicos/196-even-tos-aprobados-argentina> (consultado: 10-V-2023).
- Fehr, W. R. and C. E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. *Coop. Ext. Ser., Iowa Agric. and Home Econ. Spec. Rep.* (80). Exp. Stn., Iowa State Univ., Ames, USA.
- Murúa, M. G.; M. A. Vera; M. I. Herrero; S. Fogliata and A. Michel. 2018.** Defoliation of soybean expressing Cry1Ac by lepidopteran pests. *Insects* 9: 93 [En línea] Disponible en doi:10.3390/insects9030093.
- Nardon, A. C.; S. M. Mathioni; L. V. dos Santos e D. D. Rosa D. D. 2021.** Primeiro registro de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) sobreviviendo em soja Bt no Brasil. *Entomological Communications* 3. ec03028. [En línea] Disponible en doi: 10.37486/2675-1305.ec03028.
- Vera, M. A.; A. S. Casmuz; L. A. Fadda; S. V. Fogliata; E. C. Marchi; M. G. Murúa y G. Gastaminza. 2018.** Susceptibilidad de lepidópteros en soja Bt *Glycine max* (L.) Merr. XXVII Congreso Brasileiro y X Congreso Latino-Americano de Entomología, Gramado, Rio Grande do Sul N° 1472, Brasil, 2 al 6 de setiembre.
- Vera, M. A.; A. S. Casmuz; M. G. Murúa; L. L. Suárez; E. Cejas Marchi; C. M. Medrano; I. Romero; J. L. Ale Reuter; E. Margagliotti; G. A. Gastaminza; F. S. Scalora y M. R. Devani. 2022.** Susceptibilidad de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae), a soja Bt. [En línea] Disponible en <https://www.eeaoc.gob.ar/?publicacion=capitulo-d2-susceptibilidad-de-rachiplusia-nu-lepidoptera-noctuidae-a-soja-bt> (consultado: 28-VI-2023).

