



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Efecto de las tecnologías Bollgard® y Bollgard II® de variedades genéticamente modificadas (GM) de algodón sobre larvas y adultos del falso bellotero *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae)

Autor

Sandra Jimena Valencia C.

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Palmira, Colombia

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Efecto de las tecnologías Bollgard® y Bollgard II® de variedades genéticamente modificadas (GM) de algodón sobre larvas y adultos del falso bellotero  
*Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae)

Autor: Sandra Jimena Valencia C.

Tesis de grado para optar al Título de Magister en Ciencias Agrarias  
Línea de Investigación: Protección de Cultivos, área: Entomología

Director: Nora Cristina Mesa Cobo Ph.D

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Palmira, Colombia

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
SEDE PALMIRA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS  
LINEA DE INVESTIGACIÓN PROTECCIÓN DE CULTIVOS

En Palmira a los 13 días del mes de Junio de 2013, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores ISAURA RODRIGUEZ y CARLOS A. BLANCO.

Para calificar la Tesis de Grado de:

**SANDRA JIMENA VALENCIA CATAÑO**

Titulada:

"EFECTO DE LAS TECNOLOGÍAS BOLLGARD® Y BOLLGARD II® DE VARIEDADES GENÉTICAMENTE MODIFICADAS (GM) DE ALGODÓN SOBRE LARVAS Y ADULTOS DEL FALSO BELLOTERO *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae)" bajo la dirección de Nora Cristina Mesa Cobo, PhD.

Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los docentes ISAURA RODRIGUEZ y CARLOS A. BLANCO, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA

ISAURA RODRIGUEZ

CARLOS A. BLANCO.

## Tabla de contenido

	Pág.
Resumen .....	10
Abstract .....	11
Introducción.....	12
2. Objetivos .....	14
2.1 Objetivo General.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. Marco teórico.....	15
3.1 Clasificación de <i>Gossypium hirsutum</i> L .....	15
3.2 Mejoramiento de <i>Gossypium hirsutum</i> L.....	15
3.3 Importancia del cultivo .....	16
3.4 Situación global de los cultivos Genéticamente Modificados (GM).....	16
3.5 Cultivos Genéticamente modificados (GM) en Colombia.....	17
3.5.1 Algodonero Bt resistente a insectos.....	17
3.5.2 Modo de acción del Bt.....	18
3.6 Aspectos generales <i>S. frugiperda</i> .....	19
3.6.1 Descripción de los estados de desarrollo y actividad .....	20
3.6.2 Ciclo de vida.....	21
3.7 Evaluación de la resistencia de plantas a insectos.....	21
3.7.1 Metabolismo .....	21
3.8 Tablas de vida .....	22

3.9 Construcción de una tabla de vida.....	23
3.9.1 Expectativa reproductiva diaria .....	23
3.9.2 Tasa reproductiva neta ( $R_0$ ).....	24
3.9.3 Tasa intrínseca de crecimiento poblacional ( $r_m$ ).....	25
3.9.4 Tiempo medio generacional (T).....	25
3.9.5 Tiempo de doblaje (Dt).....	26
3.9.6 Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) .....	26
4. Materiales y Métodos .....	27
4.1 Localización .....	27
4.2 Material vegetal .....	27
4.3 Insectos .....	27
4.4 Pruebas de alimentación para medir antibiosis .....	28
4.4.1 Índices de consumo y crecimiento .....	29
4.4.2 Índices de digestibilidad y eficiencia de conversión .....	30
4.5 Tablas de vida .....	30
4.6 Construcción de tablas de vida.....	31
4.7 Cálculo de los parámetros asociados con las tablas de vida.....	32
4.7.1 Tasa reproductiva neta ( $R_0$ ).....	32
4.7.2 Tiempo medio generacional (T).....	33
4.7.3 Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ).....	33
4.7.4 Tiempo de doblaje (Dt).....	33
4.7.5 Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) .....	33
4.8 Análisis estadístico .....	33
5. Resultados y discusión.....	35

5.1 Índices de crecimiento y desarrollo de <i>S. frugiperda</i> .....	35
5.1.1 Supervivencia de larvas en pruebas de alimentación .....	35
5.1.2 Dias a emergencia (DAE).....	36
5.1.3 Peso de las pupas.....	37
5.1.4 Peso de las heces y peso ganado por las larvas .....	38
5.1.5 Pruebas de alimentación.....	40
5.2 Tablas de fecundidad de <i>S. frugiperda</i> sobre variedades GM y convencional .....	44
5.2.1 Parámetros biológicos de <i>S. frugiperda</i> .....	45
5.2.2 Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) e hijas esperadas ( $m_x$ ) .....	46
5.2.3 Efectos subletales causados sobre la biología reproductiva de <i>S. frugiperda</i> .....	48
5.3 Tablas de vida completas para <i>S. frugiperda</i> .....	50
5.3.1 Emergencia de adultos.....	50
5.3.2 Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) e hijas esperadas ( $m_x$ ) con valores reales de supervivencia de inmaduros.....	51
5.3.3 Efectos totales sobre la biología de <i>S. frugiperda</i> .....	53
6. Conclusiones.....	56
Bibliografía .....	58

## Lista de Figuras

Pág.

<b>Figura 1.</b> Resumen metodología de pre-acondicionamiento de larvas de <i>S. frugiperda</i> en algodónero convencional. ....	28
<b>Figura 2.</b> Resumen metodología índices metabólicos para estados inmaduros de <i>S. frugiperda</i> .....	29
<b>Figura 3.</b> Resumen metodología de elaboración de Tablas de vida <i>S. frugiperda</i> .....	32
<b>Figura 4.</b> Supervivencia de inmaduros de <i>S. frugiperda</i> alimentados sobre variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS). (Cría para pruebas de alimentación) .....	35
<b>Figura 5.</b> Duración de los días a emergencia de adultos de <i>S. frugiperda</i> provenientes de larvas alimentadas sobre hojas de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).....	37
<b>Figura 6.</b> Peso de las pupas de <i>S. frugiperda</i> provenientes de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).....	38
<b>Figura 7.</b> Peso seco de heces de larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).....	39
<b>Figura 8.</b> Peso ganado por larvas de <i>S. frugiperda</i> alimentadas con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).....	40
<b>Figura 9.</b> Larvas de <i>S. frugiperda</i> con síntomas de intoxicación de <i>Bacillus thuringiensis</i> , alimentadas con la variedad DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab (arriba) y larvas sanas alimentadas con la variedad convencional Delta Opal RR (abajo) .....	43
<b>Figura 10.</b> Supervivencia de inmaduros de <i>S. frugiperda</i> alimentados con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS). (Cría para construcción de Tablas de vida).....	44

<b>Figura 11.</b> Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) de <i>S. frugiperda</i> en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) (Tablas de vida de fecundidad).....	47
<b>Figura 12.</b> Hijas esperadas ( $m_x$ ) de <i>S. frugiperda</i> en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR).....	47
<b>Figura 13.</b> Emergencia de hembras de <i>S. frugiperda</i> a partir de la cría de larvas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR). Días contados de huevo-adulto .....	51
<b>Figura 14.</b> Emergencia de machos de <i>S. frugiperda</i> a partir de la cría de larvas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR). Días contados de huevo-adulto .....	51
<b>Figura 15.</b> Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) de <i>S. frugiperda</i> en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) (Tablas de vida completas).....	52

## Lista de Tablas

Pág.

- Tabla 1.** Efecto de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) sobre el crecimiento, consumo y utilización del alimento de larvas de *S. frugiperda*..... 41
- Tabla 2.** Variables medidas a partir de la cría de *S. frugiperda* sobre variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ..... 45
- Tabla 3.** Parámetros demográficos en hembras de *S. frugiperda* provenientes de larvas criadas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) mediante tablas de vida de fecundidad. .... 48
- Tabla 4.** Parámetros demográficos en hembras de *S. frugiperda* provenientes de larvas criadas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) mediante tablas de vida completas. .... 53

## Resumen

*Spodoptera frugiperda*, es una de las plagas polífagas de mayor importancia económica en países tropicales y subtropicales. En Colombia, el algodónero es uno de sus principales hospederos, donde *S. frugiperda* causa pérdidas considerables. Sin embargo, en la última década este cultivo ha tenido un resurgimiento debido a la adopción de variedades genéticamente modificadas (GM) que afectan drásticamente la biología del insecto. El uso de estas variedades constituye una novedosa estrategia de manejo de *S. frugiperda* que debe ser evaluada bajo condiciones controladas, razón por la cual el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de las tecnologías Bollgard® presentes en variedades GM del algodónero sobre larvas y adultos de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 10\%$  HR y 12 h fotoperiodo). Para larvas se calcularon índices metabólicos y de consumo de alimento; en el caso de adultos se establecieron tablas de vida. Las variedades GM evaluadas fueron: NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y una variedad convencional Delta Opal RR (usado como control sin tecnología Bollgard®). En los ensayos con larvas se estableció una cohorte conformada por 195 larvas para cada variedad, la cual fue alimentada con hojas cosechadas del tercio superior de la planta, del material a evaluar. En estos experimentos se registró: (a) peso de larvas, (b) peso de heces, (c) peso del alimento suministrado y (d) peso del alimento no consumido. Con esta información se calculó la Tasa Relativa de consumo (TRCo), Tasa Relativa de crecimiento (TRCr), Eficiencia de la Conversión del alimento ingerido (ECI) y la Digestibilidad aproximada (DA). En el caso de adultos, se construyeron tablas de vida (35 parejas/variedad) provenientes de larvas alimentadas con cada una de las variedades mencionadas. Con los datos de supervivencia y fecundidad se calcularon los parámetros demográficos: Tasa reproductiva neta ( $R_0$ ), Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), Tiempo medio generacional (T), Tiempo de doblaje (Dt) y Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ). Los índices nutricionales indicaron una actividad antialimentaria de la variedad DP 141 B2RF sobre larvas representada en menor tasa de crecimiento y conversión del alimento. La variedad causa además una disminución del 58.6% en el peso de las larvas y una supervivencia de 3.4%. En las tablas de vida, las hembras provenientes de la variedad DP 141 B2RF exhibieron menores tasas de reemplazo ( $R_0$ ) y mayor tiempo de doblaje (Dt) comparado con los mismos parámetros obtenidos sobre la variedad convencional Delta Opal RR. Se concluye que la antibiosis de la variedad DP 141 B2RF sobre larvas tiene un efecto subletal.

Palabras clave: Actividad antialimentaria, Índices nutricionales, Estados inmaduros, Adultos, Bollgard®

## Abstract

*Spodoptera frugiperda* is one of the polyphagous pests of mayor economic importance in tropical and subtropical countries. In Colombia, cotton crops are one of its main host plants, causing considerable losses. Nevertheless, in the last decade this cultivar has resurged due to the adoption of genetically modified (GM) varieties that drastically affect the biology of the insects. The use of these varieties is a new management strategy for *S. frugiperda* that must be tested under controlled conditions. Hence, the object of this study is to determine the effect of Bollgard® technologies, present in cotton GM varieties, on larvae and adults of *S. frugiperda* under laboratory conditions (27°C, 65 ±10% HR and 12 h photoperiod). Metabolic and food consumption indexes were calculated for larvae. For the case of the adults, life tables were established. The evaluated GM varieties were: NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) and DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab). The conventional variety Delta Opal RR was used as a control without Bollgard® technology. For larvae essays, a cohort composed by 195 larvae was set for each variety that was fed with leaves from the third upper portion of each material to be evaluated. The following variables were evaluated in this experiment: (a) weight of larvae, (b) weight of feces, (c) weight of the provided food and, (d) weight of the non-consumed food. With this information the following rates were calculated: Relative Consumption Rate (RCR), Relative Growth Rate (RGR), Conversion Efficiency of Ingested Food (CEIF) and Approximate Digestibility (AD). In the case of adults, life tables were constructed with adults (35 couples/variety) that came from larvae fed on the mentioned varieties. With the data of survival and fertility, the following demographic parameters were calculated: Net Reproductive Rate ( $R_0$ ), Intrinsic Growth Rate ( $r_m$ ), Mean Generational Time (T), Doubling Time (Dt), and Finite Growth Rate ( $\lambda$ ). The nutritional indexes indicated an antifeedant activity of the DP 141 B2RF variety on larvae represented by a lower growth rate and conversion of food. The variety also causes the reduction of 58.6% in the weight of larvae and a survival of 3.4%. In the life tables, females coming from variety DP 141 B2RF showed less replacement rates ( $R_0$ ) and higher doubling time (Dt) compared with the same parameters obtained from the Delta Opal RR variety. This study concludes that the antibiosis of variety 141 B2RF on larvae of *Spodoptera frugiperda* has a sublethal effect.

Key words: Antifeedant activity, nutritional indexes, immature stages, adults, Bollgard®

## Introducción

El falso bellotero del algodón *S. frugiperda* se constituye en una de las plagas polífaga más importante desde el punto de vista económico en Sur América. Las larvas exhiben una marcada preferencia alimenticia por gramíneas cultivadas y silvestres (Casmuz *et al.*, 2010). La importancia económica de *S. frugiperda* radica en el impacto que genera en diversos cultivos en Colombia y otros países (Jaramillo *et al.*, 1989, Vélez, 1997). Se destaca el daño que causa en cultivos como maíz y el algodón (Vélez, 1997, Zenner *et al.*, 2005, Santos *et al.*, 2009). Para Colombia se reporta el ataque de *S. frugiperda* en maíz como tierrero, cogollero, trozador y en casos muy esporádicos como gusano ejército (García, 1975). El hábito más frecuente en el cultivo de maíz es como cogollero exhibiendo preferencia por las plantas cuando están entre 40 y 60 cm de altura o “rodillero” (Álvarez *et al.*, 1991, Murillo, 1991).

En el algodón el insecto puede presentarse durante todas las etapas del cultivo, las larvas atacan como trozadores o tierreros hasta la lignificación de los tallos; posteriormente pasan a alimentarse del follaje; en la época de formación de botones las larvas atacan las estructuras desde la base a la punta (García, 1975, Murillo, 1991). Con respecto a la oviposición, esta ocurre por lo general en el envés de las hojas, con una preferencia hacia el tercio superior de la planta, sin embargo se reporta que el 80% de las larvas se ubican en el tercio medio e inferior (García, 1975, Murillo, 1991). En Colombia a la fecha no existe información confiable sobre las pérdidas ocasionadas por el ataque del insecto; sin embargo para el caso de maíz tecnificado se estima que un 5 al 10% de los costos de producción están dedicados al control químico de la plaga (Zenner *et al.*, 2007, 2009).

En las zonas alzoneras del Tolima (Colombia) *S. frugiperda* se ha constituido en el insecto que más se ha hecho énfasis en la búsqueda de estrategias de manejo integrado de plagas, convirtiéndose en el enfoque principal para la implementación del control biológico con el propósito de disminuir el impacto de la plaga en campo (Álvarez y Sánchez, 1983, Vélez *et al.*, 2008).

Las plantas GM a las cuales se les ha insertado, el gen Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki (el cual expresa cristales proteicos delta-endotoxinas), poseen efectividad insecticida contra larvas de algunas especies de lepidópteros de las familia Gelechiidae y Noctuidae (Waquil *et al.*, 2002, Tabashnik *et al.*, 2003). Un ejemplo de esta tecnología lo constituye el Bollgard®, que fue creada para el control del bellotero del algodón *Heliothis virescens* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae), principal plaga de este cultivo en países de clima templado (Monsanto, 2002). La literatura internacional indica que *S. frugiperda* no es plaga de interés en los países de clima templado, para los cuales fueron desarrolladas las variedades GM, por este motivo en estas regiones no se

realizaron los estudios básicos recomendados por la EPA (1998) para esta especie.

Con estas tecnologías 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 proteína (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 modificados (Altieri, 2000). Entre las especies potencialmente beneficiadas por esta situación se reportan las del complejo *Spodoptera* (Bacheler y Mott, 2003).

Díaz y Montenegro (2003), reportaron que especies como *S. frugiperda*, *S. sunia* y *S. ornithogalli* presentaron una sobrevivencia superior al 50% en parcelas experimentales con la variedad NuOpal (Cry1Ac, Bollgard®) en la Costa Norte de Colombia. Otros como Zenner *et al.* (2008), comprobaron que la susceptibilidad de larvas de *S. frugiperda* y *S. sunia* colectadas en el Tolima a la toxina fue prácticamente nula; concluyendo que el algodón modificado que se cultiva actualmente en Colombia proporciona un control satisfactorio para los belloteros *H. virescens* y *Helicoverpa zea* (Boddie) pero no para el complejo *Spodoptera*, lo cual corrobora los resultados encontrados por Adamczyk *et al.* (1997) y Berrocal *et al.* (2005).

El desarrollo de estrategias eficientes para el control de insectos como *S. frugiperda* requiere del conocimiento de sus aspectos biológicos y las relaciones con su hospedero, en este caso plantas de algodón genéticamente modificadas. El análisis cuantitativo del consumo y utilización de las plantas es una herramienta de uso común en los estudios de las interacciones planta-insecto (Scriber y Slansky, 1981). Teniendo en cuenta los reportes relacionados con la menor susceptibilidad de *S. frugiperda* a algunos materiales de algodón genéticamente modificado, el objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de cada una de las tecnologías sembradas en Colombia (Bollgard® Cry1Ac y Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), sobre el desarrollo, supervivencia y parámetros demográficos de *S. frugiperda*. Para cumplir este objetivo se evaluó una variedad de cada una de las tecnologías, así como una variedad convencional.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo General**

Determinar el efecto de las tecnologías Bollgard® de algodón genéticamente modificado sobre los estados inmaduros y adultos de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Determinar la tasa de consumo de las larvas de *S. frugiperda* alimentados sobre algodón genéticamente modificado.

Conocer el efecto de estas tecnologías sobre el aprovechamiento eficiente del alimento, reflejado en el peso de las pupas y la fecundidad de los adultos de *S. frugiperda*.

Determinar si hay efectos deletéreos de las plantas hospederas modificadas genéticamente sobre los parámetros de tablas de vida de *S. frugiperda*.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Clasificación de *Gossypium hirsutum* L

El algodón pertenece al género *Gossypium*, familia Malvaceae, el cual comprende un amplio número de especies. Citológicamente las especies de este género se pueden dividir en: diploides (n=13) y tetraploides (n=26), cuya distribución geográfica se encuentra por todo el mundo. De las especies diploides únicamente *Gossypium herbaceum* L. y *Gossypium arboreum* L. han sido cultivadas comercialmente, y aún son importantes en áreas restringidas de la India, Asia y África. Entre las tetraploides, del Nuevo Mundo, solamente *G. hirsutum* y *Gossypium barbadense* se cultivan ampliamente y son las responsables del 98% de la producción mundial de fibra de algodón (Cadena, 2000).

La especie de algodón que se cultiva comercialmente en el país es *G. hirsutum* y es originaria de México y Centro América, en donde se pueden encontrar plantas nativas creciendo como arbustos de carácter perenne y crecimiento indeterminado. A través del mejoramiento genético el hábito de crecimiento de esta planta ha sido modificado para adaptarla a la producción comercial, pasando de las plantas nativas, perennes e indeterminadas a plantas anuales y de crecimiento más o menos determinado que producen algodón semilla más temprano que las plantas nativas (Cadena, 2000).

#### 3.2 Mejoramiento de *Gossypium hirsutum* L

En los últimos 60 años, el mejoramiento genético convencional de la especie, para introducir características útiles en la planta como productividad, precocidad, resistencia a insectos y enfermedades, arquitectura de la planta y calidad de fibra, etc. han permitido obtener nuevas y mejores variedades. A pesar del incremento en el rendimiento promedio global de 8 kg/ha/año entre 1959 y 1990; la productividad del algodón registró un estancamiento a partir de 1992 con un promedio de 592 kg/ha de fibra. En Colombia este rendimiento ha fluctuado entre 500 y 710 kg/ha en los últimos 20 años (Mendoza, 2000). Las técnicas de mejoramiento convencional requieren gran cantidad de tiempo para seleccionar y establecer una característica particular y deseable en una variedad y en algunos casos es imposible incorporar estas características por métodos tradicionales.

Desde hace 15 años, la ingeniería genética, también llamada tecnología del ADN recombinante, se aplica para obtener plantas de algodón genéticamente modificadas (GM), resistentes a insectos y tolerantes a herbicidas lo cual

representa un gran potencial para introducir otras características deseables en la planta. Esta nueva tecnología es considerada como un instrumento alternativo para modificar y mejorar los cultivos, particularmente en el caso del algodón donde las pérdidas por insectos y malezas son altamente significativas. El uso excesivo de plaguicidas para el control de insectos y malezas obliga a desarrollar plantas que disminuyan ciertas poblaciones de insectos y faciliten el manejo de malezas, para disminuir así el acelerado deterioro del medio ambiente (Silva, 2005)

### **3.3 Importancia del cultivo**

El algodón es la principal planta cultivada para producción de fibra en el mundo, de gran importancia como materia prima para la fabricación de tejidos y prendas de vestir. Subproductos como el aceite extraído de la semilla es de alta calidad y de uso frecuente por las amas de casa; otro subproducto importante es la torta de algodón obtenida de la semilla, la cual tiene alto contenido de nutrientes y es usada en la fabricación de alimentos concentrados para animales. Las fibras cortas, que quedan luego de remover la totalidad de la fibra, son procesadas para obtener productos dietéticos de alto contenido de fibra, tiene además algunos usos alimenticios que incluyen forros para embutidos. Los procesados también se utilizan para mejorar la viscosidad de ciertos productos como pasta dental y helados, entre otros (Silva, 2005).

### **3.4 Situación global de los cultivos Genéticamente Modificados (GM)**

Entre los 28 países que sembraron cultivos GM en 2012, se registran 20 en desarrollo y 8 industrializados. De esta forma, hay tres veces más países en desarrollo plantando cultivos GM que países industrializados, cada uno de los diez primeros países cultiva más de 1 millón de hectáreas. El año 2012 marcó una cifra sin precedentes, alcanzando un aumento de 100 veces en las hectáreas de cultivos GM, de 1,7 millones de hectáreas en 1996 a 170 millones de hectáreas en 2012. Según el reporte del *International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications* (ISAAA), para el año 2012 los cultivos GM crecieron un 6%, (10,3 millones de hectáreas más con respecto al año 2011). Colombia ocupa el puesto 19 de los países que sembraron cultivos biotecnológicos, con el cultivo del algodón (James, 2012).

### 3.5 Cultivos Genéticamente modificados (GM) en Colombia

Desde el 2002, año en que Colombia empezó a cultivar semillas genéticamente modificadas, hasta ahora el número de hectáreas de cultivos GM ha aumentado significativamente. Ocho años después de la implementación de esta tecnología, el incremento en la adopción de estos cultivos refleja los grandes beneficios que han aportado al sector agrícola. En el 2012, se sembraron 28.172 ha. lo que representó una disminución en su uso, debido a factores como la afectación por los factores climáticos (Agrobio, 2012).

El cultivo de maíz GM también aumentó con respecto al 2011. En el 2012 se sembraron 75.046 hectáreas, lo que significó un incremento de 15.807 ha. con respecto al año anterior (en el 2011 se sembraron 59.239 hectáreas). Cabe recordar que el maíz genéticamente modificado se cultiva bajo el esquema de 'siembras controladas' y todavía no está aprobado para comercialización. Desde 2009, Colombia aprobó la siembra comercial de rosas azules genéticamente modificadas, las cuales están destinadas exclusivamente para exportación (Agrobio, 2012).

#### 3.5.1 Algodonero Bt resistente a insectos

Es una tecnología desarrollada para proteger las plantas del daño de ciertos insectos, a través de la inserción de un gen o genes de una bacteria natural del suelo, *Bacillus thuringiensis*, comúnmente conocido como Bt, lo que las hace producir, durante todo su ciclo de vida, pequeñas cantidades de una proteína Cry  $\delta$ -endotoxina que es tóxica para ciertos insectos (Haile *et al.*, 2004, Torres y Ruberson, 2008, Blanco *et al.*, 2008).

Una vez insertado el gen del Bt en el genoma de variedades de algodón de alto rendimiento, las características de la proteína Cry son transferidas, sin afectar propiedades agrícolas como mayor rendimiento, mejor calidad de fibra y otras características importantes (Silva, 2005).

El término "Cry" hace referencia a "cristalina", reflejando la apariencia cristalina de la  $\delta$ -endotoxina; "Cry" es usada para denotar proteína, mientras "cry" denota el respectivo gen que codifica para la producción de la toxina. Inicialmente las proteínas Bt fueron clasificadas en cuatro clases, basadas en el rango de sus hospederos. Así, por ejemplo Cry1 es activa frente a lepidópteros, Cry2 actúa contra lepidópteros y dípteros, Cry3 contra coleópteros y Cry4 contra dípteros. Existen 376 genes cry distintos que se clasificaron de acuerdo con la similitud de secuencias en 54 grupos divididos en diferentes clases y subclases (Crickmore *et al.*, 1998, 2008). Una lista actualizada de todos estos genes cry, cuyo número

aumenta día a día, se encuentra disponible con acceso libre en internet [[http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)] (Höfte y Whiteley, 1989, Feitelson *et al.*, 1992, Krattiger, 1997, Crickmore *et al.*, 2008).

Las primeras variedades Bt que se introdujeron comercialmente contenían la proteína Cry1Ac, derivada de la bacteria *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, (B.t.k.) y se comercializan con el nombre de Bollgard® (Ellsworth *et al.*, 1995a, Perlak *et al.*, 2001, Edge *et al.*, 2001).

Promovido por el potencial de las primeras variedades Bt y para dar los primeros indicios del alto grado de eficacia contra plagas tan importantes como *Pectinophora gossypiella* Saunders y otras plagas de insectos (Wilson *et al.*, 1992, Ellsworth *et al.*, 1995a, 1995b, 1996, Flint *et al.*, 1996), varios programas de investigación desarrollaron nuevos genes Bt para introducirlos en el algodón. El objetivo en el desarrollo de estos nuevos genes Bt era mejorar la eficacia, para proporcionar un amplio espectro de control a insectos, con el fin de retrasar la aparición de insectos resistentes; uno de esos productos, desarrollados por Monsanto fue designado como Bollgard II®, tecnología que consiste en una combinación de dos genes Bt, el gen original Cry1Ac Bollgard y un nuevo gen Bt, Cry2Ab (Marchosky *et al.*, 2001).

### 3.5.2 Modo de acción del Bt

Las proteínas Cry deben ser ingeridas para tener una actividad insecticida. En el intestino del insecto, la proteína se solubiliza debido al pH alcalino y se degrada hasta quedar el núcleo proteico que genera la actividad tóxica. El núcleo de la proteína se une a receptores específicos en el intestino medio de insectos lepidópteros, se inserta dentro de la membrana y forma poros que rompen el flujo de iones existentes en el tubo digestivo. De esta forma se produce parálisis en la digestión y se causa la muerte del insecto por inanición (De Maagd *et al.*, 2001, Bravo *et al.*, 2004, Broderick *et al.*, 2006, Zhang *et al.*, 2006).

Las proteínas Cry se han estudiado intensamente por su elevada potencia insecticida contra varias plagas polífagas del orden Lepidóptera, están compuestas por tres dominios estructurales que participan de manera diferente durante la ruta tóxica (Prieto *et al.*, 1997). El dominio I está constituido por un grupo de siete hélices- $\alpha$  anfipáticas, con la hélice- $\alpha$  cinco en el centro; la función de este dominio se ha asociado con procesos de formación de poros en vesículas y balsas lipídicas. El dominio II consiste en tres láminas- $\beta$  antiparalelas dispuestas en una topología típica de llave griega; este dominio se ha asociado con el proceso de reconocimiento y de unión al receptor en las microvellosidades del epitelio intestinal, y más recientemente, a la formación de la estructura oligomérica pre-poro (Herrero *et al.*, 2004). El dominio III consta de dos láminas- $\beta$

plegadas con una conformación de láminas- $\beta$  intercaladas, y al parecer contiene los determinantes de la especificidad por el insecto “diana”. El intercambio del dominio III entre diferentes toxinas Cry ha motivado la construcción de proteínas quiméricas con un mayor espectro de acción y actividad insecticida (Vázquez *et al.*, 1998, Karlova *et al.*, 2005).

### **3.6 Aspectos generales *S. frugiperda***

En Colombia, *S. frugiperda* ha presentado acelerados incrementos poblacionales en Medellín (1914), norte del Tolima (1964), Sucre (1978, 1985, 1986), Córdoba (1979) y en el Sinú (1984, 1985) (Santos *et al.*, 2009). 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 *et al.*, 1987, Stenseth *et al.*, 1987, Nothnagle *et al.*, 1987, Mason *et al.*, 1987), amplia distribución geográfica (Sparks, 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 con más de 186 hospederos cultivados y silvestres distribuidos en 42 familias (Westbrook y Sparks, 1986, Casmuz *et al.*, 2010). El insecto 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 estas características, se han registrado variabilidad en el número de huevos puestos por hembra, la duración del ciclo de vida e incluso el número de instares (Andrews, 1988). Además, en el Tolima se han identificado biotipos (maíz y arroz) que son idénticos morfológicamente, pero que difieren en su composición genética, resistencia a insecticidas sintéticos y biológicos como *B. thuringiensis*; con respecto a esta característica, el biotipo de maíz es más resistente que el biotipo de arroz (Vélez *et al.*, 2008). Por estas razones existe un riesgo potencial para que una proporción de la población sobreviva y se ajuste a los cambios ambientales lo cual conduce a que en condiciones óptimas se incrementen las poblaciones a niveles económicamente importantes en muy corto tiempo (Sparks, 1979).

Además de las características biológicas de *S. frugiperda*, Colombia presenta una alta heterogeneidad biofísica en los agroecosistemas aldoneros y una rotación permanente de cultivos que garantizan la reproducción continua de muchas especies de herbívoros (Vélez, 1997).

### 3.6.1 Descripción de los estados de desarrollo y actividad

**-Adultos:** presentan aspectos variables, la expansión alar oscila entre 30 y 35 mm. El insecto presenta pubescencia en el tórax y abdomen, color ceniciento y antenas filiformes. Las alas anteriores del macho son de color pardo oscuro, mientras que las posteriores son de color blanco con un ribete oscuro en los bordes externos; las hembras tienen una coloración gris más homogénea comparada con los machos, observándose también arabescos, aunque menos conspicuos (Vélez, 1997).

Machos y hembras muestran hábitos nocturnos y son atraídos fácilmente por la luz. Las hembras tienen un periodo precopulatorio de 1 a 2 días y otro de preoviposición de 2 días aproximadamente (Vélez, 1979, 1997).

**-Huevos:** Son esféricos, algo aplanados en la parte superior, con 0.5 mm de diámetro aproximadamente y con la superficie externa estriada en forma radial, su color es blanco amarillento, con cierto brillo nacarado cuando están recién puestos, tornándose de coloración gris rojizo a medida que avanza el proceso de incubación. Los huevos son puestos en masas y son cubiertos por secreciones de la hembra y escamas. La oviposición generalmente ocurre en el envés de las hojas del cultivo hospedero o de las arvenses asociadas (Vélez, 1997).

**-Larvas:** Son eruciformes, con tres pares de patas torácicas, cuatro pares de pseudopatas abdominales y un par anal o telson. Recién salidas de los huevos tienen aproximadamente 1.5 mm de largo, color blanquecino, cabeza negra y prominente, el cuerpo cubierto de finas setas; en estado más avanzado de desarrollo muestran una coloración variable, desde color verdoso hasta gris oscuro. Son la única etapa dañina del insecto, después de emerger se alimentan del corion, son trozadoras o tierreras en muchos cultivos; los tres primeros instares requieren menos del 2% del follaje total consumido, sin embargo una larva puede llegar a consumir 140 cm<sup>2</sup> de *Digitaria sanguinalis* (gramínea) para completar su desarrollo (Vélez, 1997).

**-Pupas:** Miden aproximadamente 18 mm de longitud, son de tipo obtectas, de color café oscuro, lisas y brillantes, el cremáster está constituido por dos espinas pequeñas en forma de V invertida. Una vez la larva alcanza su desarrollo (aproximadamente 44 mm de largo) suspende su alimentación y baja al suelo donde forma una cámara pupal, muda por última vez y se convierte en pupa (Vélez, 1997).

### **3.6.2 Ciclo de vida**

El ciclo de vida de este insecto se ve modificado por la calidad del alimento y las condiciones ambientales especialmente la temperatura. Los adultos pueden durar entre 10 a 12 días, el número de huevos por hembra puede variar entre 600 y 1,780. La duración del huevo está entre 2 y 4 días. Para las larvas la duración va de acuerdo al cultivo, siendo de 15 a 24 días en algodónero y 16 a 20 días en promedio para maíz. El estado de prepupa es de 1 a 3 días, para las pupas varía entre 6 a 10 días en algodónero y de 12 a 15 días en maíz (Gallego, 1946, Labrador, 1967, Vélez, 1997).

### **3.7 Evaluación de la resistencia de plantas a insectos**

Existen diferentes factores que afectan el desarrollo normal de un insecto al colonizar una planta, entre estos factores está la alteración del comportamiento y el metabolismo del insecto. Seis categorías principales o factores de respuesta son consideradas para medir la resistencia de plantas a insectos en ensayos con ambiente controlado. Estos factores son la orientación, el contacto, establecimiento o colonización, la alimentación, el metabolismo de los alimentos ingeridos, el crecimiento, la longevidad de adultos y la oviposición (Saxena, 1969, 1974, Visser, 1983). La viabilidad de los huevos es también un factor importante para el establecimiento de los insectos, particularmente aquellos que ponen sus huevos dentro del tejido de la planta (Saxena y Pathak, 1977). El grado en que un insecto responde a cada una de las categorías de respuesta determina el establecimiento o no sobre diferentes plantas. Parece que la interrupción de una o más de estas respuestas de los insectos debido a caracteres desfavorables de la planta se debe a diferentes grados de resistencia de las plantas (Visser, 1983). Para una determinación real de la resistencia de una planta a un insecto, es conveniente entender las respuestas fisiológicas y de comportamiento de los insectos durante las diferentes fases del establecimiento en la planta. La interacción es la suma de algunas o todas estas respuestas que determinan los diferentes grados de susceptibilidad o resistencia de una planta a una especie de insecto (Smith *et al.*, 1994).

#### **3.7.1 Metabolismo**

El consumo del tejido de la planta por un insecto debe estar seguido por una adecuada asimilación de los alimentos ingeridos antes de contribuir en los procesos de crecimiento, supervivencia y fecundidad de los insectos. Por lo tanto, los análisis de la utilización de los alimentos han demostrado ser útil en las investigaciones de los mecanismos de resistencia de las plantas a los insectos y

en la clasificación de los niveles de resistencia (Kogan y Parra, 1981). Diversos estudios han tratado de cuantificar la eficiencia con la cual los insectos explotan las fuentes alimenticias, en este caso el tejido de diferentes partes de la planta. La asimilación de los alimentos ingeridos por los insectos consiste en metabolizar correctamente los componentes de los alimentos no absorbibles y la absorción de los compuestos absorbibles de los alimentos, lo que resulta en la eficiente conversión de componentes a los tejidos del cuerpo del insecto (Saxena, 1969). La asimilación, la cual se traduce en ganancia de peso del insecto, depende del grado en que los constituyentes de los alimentos absorbidos pueden satisfacer las exigencias del metabolismo intermediario y la ausencia de cualquier toxina en el alimento absorbido que podría inhibir el metabolismo. Por lo tanto, el valor nutritivo de una planta como un alimento está determinado por su facilidad de absorción y asimilación por el insecto. Además, las diferencias en la eficiencia de la digestión y la conversión de los alimentos por los insectos también contribuyen al valor nutritivo de una planta para un insecto (Smith *et al.*, 1994).

En la mayoría de los casos, la medición de la utilización de los alimentos por los insectos se ha determinado mediante los métodos gravimétricos descritos por (Waldbauer, 1964, 1968). Otros métodos, como la colorimetría, radioisotópica, calorimétrica, enzimáticos y respirométricos, dependen de mediciones indirectas de la utilización metabólica. Los índices utilizados en el análisis de utilización de los alimentos en general, requieren la medición de los pesos inicial y final de insectos, pesos iniciales y final de los alimentos, y la cantidad de materia fecal acumulada durante el experimento (Kogan y Parra, 1981). Numerosos métodos se han utilizado para cuantificar la utilización de los alimentos por insectos masticadores, chupadores y raspadores.

Los índices nutricionales son ampliamente utilizados para detectar la resistencia a insectos en varios cultivos, por ejemplo, en maíz contra gusano cogollero, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Manuwoto y Scriber, 1982), en algodónero contra *Alabama argillacea* (Hubner) (Montandon *et al.*, 1987), en tabaco para *H. virescens* (Mulrooney *et al.*, 1985, Montandon *et al.*, 1987), en papa para *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Cantelo *et al.*, 1987) y en soya para *Pseudoplusia includens* (Walker) (Reynolds *et al.*, 1984).

### **3.8 Tablas de vida**

Los parámetros biológicos, así como los principales estadísticos vitales de una población de un insecto plaga, estimados con base en tablas de vida desarrolladas en condiciones de laboratorio, son una herramienta básica para la implementación de estrategias de manejo (Southwood, 1966, Horn, 1988, Carey, 1993).

Estas estimaciones han sido empleadas en estudios tendientes a evaluar resistencia de plantas (Trichilo y Leigh, 1985) y además como un patrón para la selección de enemigos naturales (Janssen y Sabelis, 1992). Las tablas de vida suministran información válida para la comprensión de la dinámica poblacional de una especie en particular (Carey, 1993); éstas resumen la información esencial de una población con respecto a la tasa de mortalidad, supervivencia y esperanza de vida de la especie (Silveira *et al.*, 1976). Según Carey (1993), las tablas de vida pueden ser completas (en la cual las funciones se computan para cada día de la vida) o abreviadas.

Los principales parámetros asociados con las tablas de vida son: a) La tasa neta reproductiva ( $R_0$ ), b) La tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), c) El tiempo medio generacional ( $T$ ), d) El tiempo de doblaje ( $Dt$ ) y e) La tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) (Andrewartha y Birch, 1954). La dinámica poblacional de insectos puede variar ampliamente, dependiendo de un sin número de características. La edad es una de las más influyentes; por ejemplo, los estados inmaduros a menudo consumen más alimento que los adultos, lo que significa que el nivel de daño económico puede ser más bajo para los inmaduros que para los adultos, por lo tanto es útil subdividir una población en edades y analizar la mortalidad separadamente para cada edad, esto es efectuado mediante un muestreo intensivo para expresar los resultados en forma de tabla de vida, que no es otra cosa que un resumen de tabular la supervivencia y mortalidad de las generaciones (Horn, 1988, Bellows *et al.*, 1992).

### **3.9 Construcción de una tabla de vida**

Las tablas de vida pueden ser de edad específica (horizontal) o de tiempo específico (vertical). En las primeras, el seguimiento de una cohorte de individuos se registra desde su nacimiento colectivo hasta la muerte del último sobreviviente, y la supervivencia está determinada por la observación directa. Aunque éstas tablas son válidas desde el punto de vista estadístico debido a que la cohorte representa individuos de una sola población y una sola generación, a veces son menos factibles cuando las generaciones se solapan, o cuando presentan un desarrollo substancial tardío (Andrewartha y Birch, 1954, Horn, 1988).

#### **3.9.1 Expectativa reproductiva diaria**

Las hembras de una especie están en capacidad de producir una progenie solo en cierta etapa de sus vidas, debido a que gran parte del tiempo están en estado inmaduro o son demasiado viejas. Mediante observación directa se puede hacer un estimativo del número de hijas que una hembra puede producir para dejar

cada mes,  $m_x$  (el número esperado de hijas que serán producidas en una edad por una hembra) (Price, 1997).

La sumatoria total de la columna  $m_x$  da como resultado la tasa reproductiva bruta que representa el número total esperado de nacimientos producidos por una hembra que vive a través de todas las edades. Pero el crecimiento de la población depende del número de hembras sobrevivientes y su producción individual de progenies, representado por el producto de  $l_x$  y  $m_x$ . Esto da la expectativa reproductiva de una hembra a una edad  $x$  por una hembra de la generación completa (Price, 1997).

### 3.9.2 Tasa reproductiva neta ( $R_0$ )

La tasa reproductiva es la característica que define la capacidad de una especie para incrementar en número. La capacidad innata de un animal para incrementar depende de su fecundidad, longevidad y velocidad de desarrollo. En una población estos son medidos por la tasa de nacimientos y de sobrevivencia (o su inverso, la tasa de mortalidad) (Andrewartha y Birch, 1954).

Cuando la tasa de muerte excede la tasa de nacimientos, la población declina y la proporción depende de las diferencias entre ellos. Cuando estos son iguales, el número de la población permanece estable. Cuando la tasa de nacimientos excede la tasa de muerte, la población se incrementa. Aunque este argumento es bastante simple, la complejidad es introducida tan pronto como se busque estimar la tasa cuantitativa con la cual la población incrementa o decline (Andrewartha y Birch, 1954).

Según Horn (1988) una tabla de vida válida puede ser usada para determinar si una población está creciendo, declinando o permanece estable. La tasa de reproducción neta o de reposición,  $R_0$ , se calcula a partir de la sobrevivencia de las hembras adultas ( $l_x$ ) y del promedio de la fecundidad ( $m_x$ , fecundidad por hembra individual), dado por la siguiente fórmula:

$$R_0 = \sum l_x * m_x$$

Luego de construir una tabla de vida para una población de insectos, esta puede ser usada para simular las consecuencias de las decisiones de manejo. (Horn, 1988).

### 3.9.3 Tasa intrínseca de crecimiento poblacional ( $r_m$ ).

Aunque la tasa intrínseca de crecimiento  $r_m$ , fue originalmente utilizada en estudios de poblaciones humanas (Lotka, 1925) su relevancia para estudios ecológicos estaba ya implícita en libros como: “Elements of Physical Biology” de A.J. Lotka en 1925, y en “The Genetical Theory of Natural Selection” en 1930 por R.A. Fisher. Sin embargo a Leslie y Ranson de la división de población animal en Oxford, se le puede atribuir el crédito de tener adaptado la estadística  $r_m$  para el roedor *Microtus agrestis* (Leslie y Ranson, 1940). Desde entonces su uso ha sido extendido para poblaciones de insectos por varios autores (Birch, 1948, 1953a, 1953b, Leslie y Park, 1949, Evans y Smith, 1952, Howe, 1953a, 1953b). La tasa intrínseca de incremento natural puede ser determinada a partir del conocimiento de la tasa de reproducción neta ( $R_0$ ) y la longevidad de la generación; ambas estadísticas pueden ser fácilmente estimadas a partir de las tablas donde están consignados los días de nacimiento y tasa de supervivencia (Andrewartha y Birch, 1954).

Esta estadística es característica para cada especie de insecto bajo condiciones ambientales apropiadas y es un indicador útil de la velocidad con la cual una plaga puede estar creciendo para alcanzar el nivel de daño económico (Horn, 1988). Conociendo  $R_0$  y  $T$  se puede estimar la tasa intrínseca de crecimiento:

$$r_m = \log_e R_0 / T$$

### 3.9.4 Tiempo medio generacional (T)

La duración media de una generación está definida como el período medio a transcurrir desde el nacimiento de los padres hasta el nacimiento de la progenie (Andrewartha y Birch, 1954).

Se pueden considerar que los nacimientos de cada generación están concentrados en un momento, con generaciones sucesivas espaciadas en  $T$  unidades, donde  $T$  es la duración media de una generación (Dublin y Lotka, 1925). Este cálculo está dado por la fórmula:

$$T = \sum l_x * m_x * X / \sum l_x * m_x$$

### 3.9.5 Tiempo de doblaje (Dt)

Es el tiempo necesario para doblar la población inicial, se estima mediante la ecuación:

$$Dt = \ln(2)/r_m$$

### 3.9.6 Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ )

Según Andrewartha y Birch (1954), la tasa finita de crecimiento es un factor de multiplicación de la población por hembra por semana, es decir que da el crecimiento semanal estimado para una población determinada en condiciones naturales. La tasa finita de incremento sirve para determinar cómo es la curva de la población y obtener una tasa máxima de aumento (Silveira *et al.*, 1976). La ecuación es:

$$\lambda = \text{Antilog } r_m$$

## 4. Materiales y Métodos

### 4.1 Localización

Los ensayos se llevaron a cabo en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) ubicado en Palmira, Valle del Cauca, Colombia, en condiciones de invernadero para la siembra de las plantas y de laboratorio para las evaluaciones con los insectos. La ubicación geográfica del CIAT es: 3° 31' de latitud norte, 76° 20' de longitud oeste; a 1000 m.s.n.m.

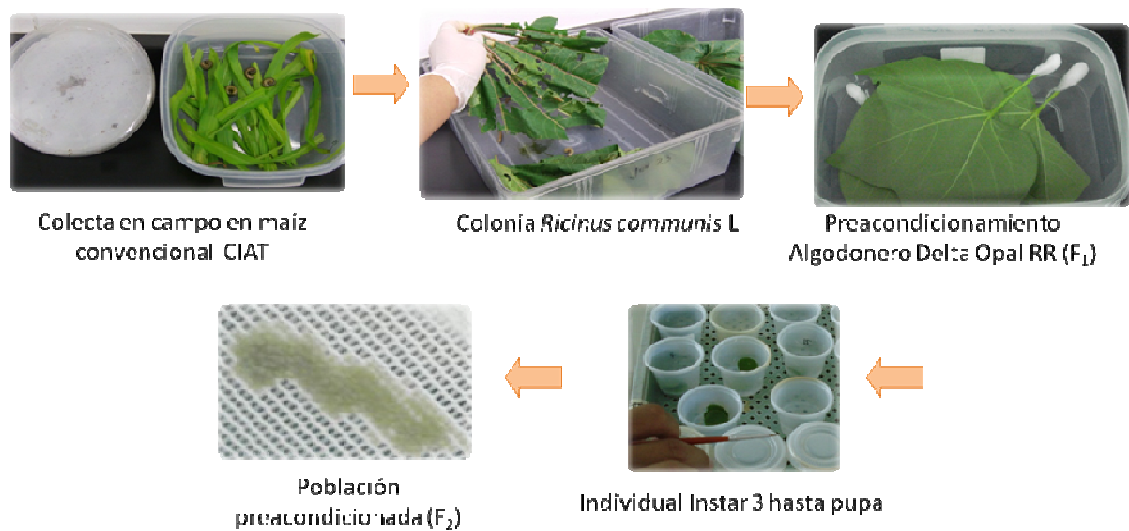
### 4.2 Material vegetal

Las variedades de algodón que se usaron para las pruebas de alimentación fueron: NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2ab) y Delta Opal RR® como testigo (material convencional), todas propiedad de la compañía Monsanto. Estos materiales se seleccionaron teniendo en cuenta su importancia como cultivos GM comerciales en Colombia. Las variedades se sembraron bajo condiciones de casa de malla o invernadero, en potes plásticos número 28 con capacidad aproximada para 10 kilogramos, con una mezcla de suelo y arena en proporción 1:1. Las hojas que se usaron para la alimentación de las larvas en los ensayos fueron cosechadas del tercio superior, cuando la planta estaba en periodo de prefloración (entre 35 y 40 días después de germinar), para asegurar el suministro de hojas de la misma edad se hicieron siembras cada semana durante seis semanas aproximadamente, las siembras fueron coordinadas con la disponibilidad de larvas para los ensayos.

### 4.3 Insectos

*S. frugiperda* es una plaga secundaria en el algodón; por esta razón, con el fin de obtener larvas pre-acondicionadas al consumo del cultivo y evitar el incremento en la mortalidad al ser sometidas directamente a cada una de las variedades a evaluar, se colectaron larvas en lotes comerciales de maíz en CIAT, las cuales fueron alimentadas con hojas de higuera (*Ricinus communis* L.). Con la primera generación (F<sub>1</sub>) se estableció una colonia en laboratorio alimentada únicamente con hojas de la variedad convencional (Delta Opal RR), las larvas se mantuvieron inicialmente en bandejas plásticas con tapa, hasta que alcanzaban el instar 2 o 3, para ser individualizadas en copas desechables de dos onzas con tapa, para evitar la mortalidad por canibalismo, dentro de cada copa se introducía una pequeña mota de algodón humedecido para mantener la humedad en el

interior y evitar la deshidratación del trozo de hoja. Las pupas también se mantuvieron en estas mismas copas con el algodón humedecido para evitar su deshidratación, la humedad del algodón se revisaba y se adicionaba agua destilada estéril cuando era necesario. Con las larvas de la segunda generación ( $F_2$ ) provenientes de las larvas pre-acondicionadas se establecieron los ensayos de alimentación en cada una de las variedades (Fig. 1). Los insectos fueron mantenidos en condiciones de laboratorio ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 10\%$  HR y 12 h fotoperiodo). En todos los casos los adultos fueron alimentados con una solución de miel de abeja y agua en proporción 1:3. El proceso de pre-acondicionamiento fue repetido antes de dar inicio a cada una de las cuatro repeticiones para evaluar los índices metabólicos, así como antes de dar inicio a las cohortes para la elaboración de las tablas de vida.



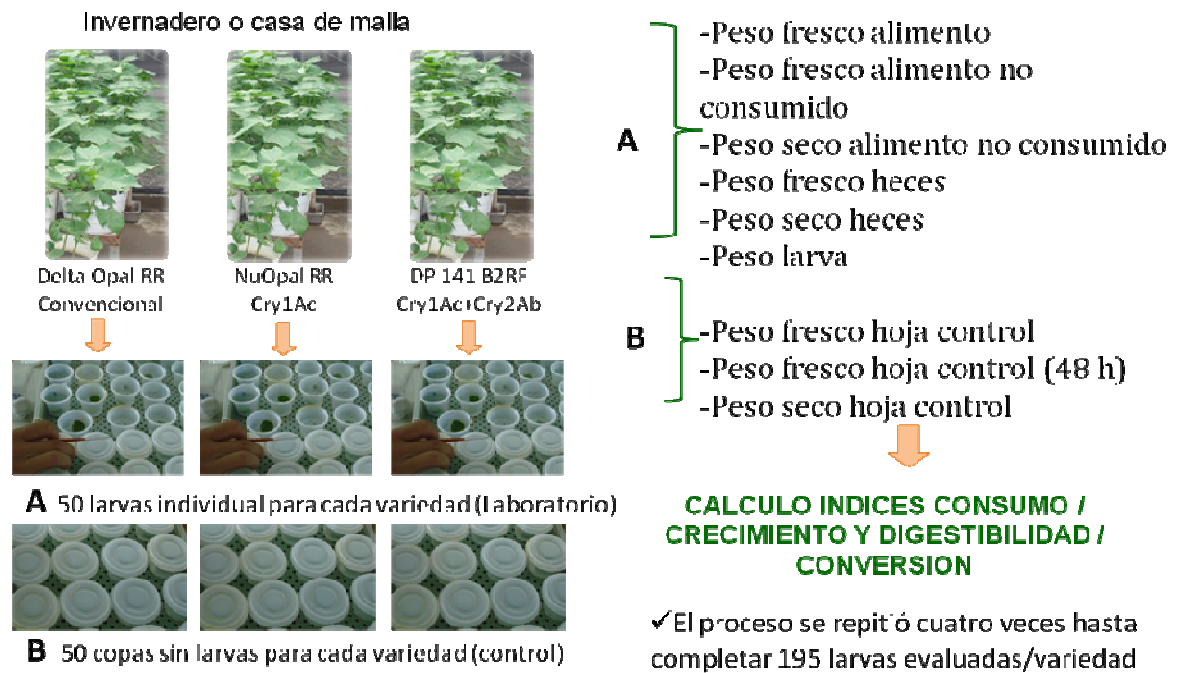
**Figura 1.** Resumen metodología de pre-acondicionamiento de larvas de *S. frugiperda* en algodón convencional.

#### 4.4 Pruebas de alimentación para medir antibiosis

Para la evaluación del consumo y utilización del alimento, en cada variedad se individualizaron 50 larvas recién emergidas en copas desechables de dos onzas, en las cuales previamente se había puesto un trozo de hoja del tercio superior de plantas en período de prefloración, de la variedad a evaluar; las 50 larvas corresponden a una repetición. El cambio de alimento y la evaluación de (a) peso de las larvas, (b) peso de las heces, (c) peso del alimento suministrado y (d) peso del alimento no consumido se realizó cada dos días. Las heces y la fracción de alimento no consumido se sometieron a secado durante 96 horas a  $65^\circ\text{C}$ , para obtener el peso seco. El peso se tomó hasta que la última larva en cada variedad

dejara de alimentarse, fenómeno que indicaba la entrada al estado de pre-pupa. Cuando se presentaron las pupas, estas se revisaron para registrar su peso y sexo. Para cada larva se tuvo una repetición control (sin larva) con una fracción de hoja también del tercio superior, de peso conocido para determinar la pérdida de peso causada por la evaporación con el fin de estimar el alimento consumido por cada larva, esta hoja también se cambió cada 48 horas y se sometió al proceso de secado para hallar el peso seco.

Se establecieron cuatro repeticiones en el tiempo de 50 larvas hasta que se completaron 195 larvas evaluadas en total, de segunda generación por variedad, para la cuarta y última repetición solo se tomaron 45 larvas debido a que todas las larvas debían tener la misma edad y esa fue la cantidad que logró recuperarse para el día de iniciar los ensayos. En la Figura 2, se resume la metodología de evaluación para el cálculo de índices metabólicos en estados inmaduros (larvas).



**Figura 2.** Resumen metodología índices metabólicos para estados inmaduros de *S. frugiperda*

#### 4.4.1 Índices de consumo y crecimiento

Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices nutricionales, metodología propuesta por Waldbauer (1964), (1968) y modificada por Scriber y Slansky (1981):

### Tasa Relativa de Consumo (TRCo)

$$TRCo = \frac{\text{Peso fresco del alimento consumido (g)}}{\text{Duración periodo alimentación (d)} \times \text{Peso medio de larvas durante el ensayo (g)}}$$

### Tasa Relativa de Crecimiento (TRCr)

$$TRCr = \frac{\text{Peso fresco ganado por las larvas durante en ensayo (g)}}{\text{Duración periodo alimentación (d)} \times \text{Peso medio larvas durante ensayo}}$$

#### 4.4.2 Índices de digestibilidad y eficiencia de conversión

La eficiencia en la conversión del alimento es un parámetro que mide la habilidad que tiene el insecto en utilizar, para su crecimiento, el alimento que ingiere. Este índice se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$ECI = \frac{\text{Peso fresco ganado por las larvas durante el ensayo}}{\text{Peso seco del alimento ingerido}} \times 100$$

$$DA = \frac{\text{Peso seco alimento ingerido (g)} - \text{Peso seco heces (g)}}{\text{Peso seco del alimento ingerido (g)}} \times 100$$

#### 4.5 Tablas de vida

A través de las tablas de fecundidad se midieron los efectos subletales de los materiales sobre la biología reproductiva de los adultos de *S. frugiperda*, después de alimentar las larvas del insecto en las variedades GM, NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2ab) y convencional Delta Opal RR®. Para lograr esto se asumió que el porcentaje de supervivencia de inmaduros fue del 100%.

En las tablas de vida completas se tuvo en cuenta el porcentaje real de supervivencia de inmaduros con el fin de determinar los efectos totales sobre la biología del insecto, desde el nacimiento hasta su muerte. En otras palabras, las tablas de vida completas midieron el impacto total de la antibiosis en la demografía de los insectos.

#### 4.6 Construcción de tablas de vida

Las tablas de vida se establecieron sobre las variedades NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2ab) y Delta Opal RR (convencional). Una vez emergidos los adultos provenientes de cada genotipo, se confinaron 70 individuos (35 hembras y 35 machos) completando así la cohorte total para cada tabla de vida. Se individualizaron parejas las cuales se mantuvieron en jaulas de tul de 30 cm de alto por 15 cm de ancho; en el fondo de cada jaula se puso una caja petri con un algodón impregnado de una solución de miel de abeja y agua en proporción 1:3. Los adultos fueron cambiados de jaula diariamente con el fin de contar los huevos ovipositados por cada hembra, así mismo se registró la mortalidad de los adultos. Con los datos obtenidos se estableció:

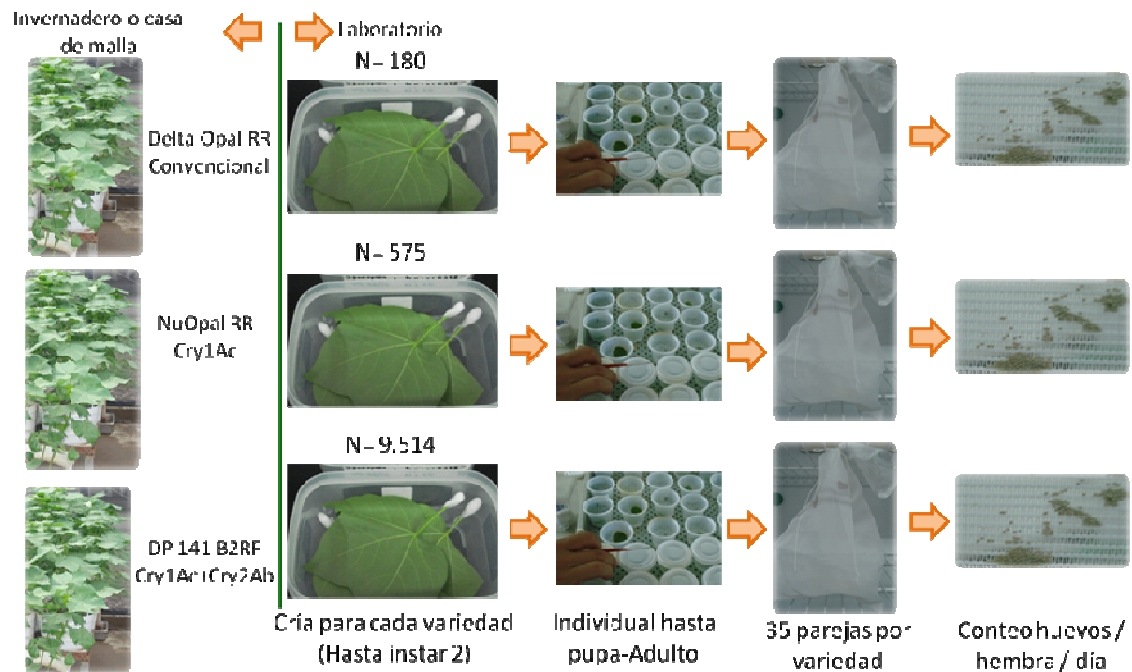
- La supervivencia y longevidad de hembras y machos. Con esta información se generó la curva de supervivencia ( $l_x$ ).
- La fecundidad de las hembras (número de posturas diarias). Esto permitió graficar ( $m_x$ ).
- El peso seco de los adultos al morir.

Con los datos obtenidos se calcularon las siguientes estadísticas de población (Andrewartha y Birch, 1954), mediante la técnica Jackknife implementada por Maia *et al.* (2000), por medio del paquete estadístico SAS (SAS, 2004):

- $l_x$  = Proporción de hembras que sobreviven en los intervalos de edad.
- $m_x$  = Número de hembras producidas por cada hembra a la edad  $x$
- $R_o$  = Tasa reproductiva neta, es decir, el número de hijas que reemplazan a cada madre al cabo de una generación.
- $r_m$  = Tasa intrínseca de crecimiento de la población
- $T$  = Tiempo medio generacional
- $Dt$  = Tiempo de doblaje
- $\lambda$  = Tasa finita de crecimiento.

Después de individualizadas las parejas se siguieron contando diariamente los insectos que emergieron por cohorte inicial (cuyo número inicial varió de acuerdo a la mortalidad de las larvas en cada variedad) hasta completar la información con

respecto al número total de adultos emergidos, relación de sexos, duración del ciclo en días, peso seco de los adultos, también se calculó el porcentaje de emergencia. Para obtener el peso seco de los adultos se retiraron los insectos muertos separando los machos de las hembras y se sometieron a secado en horno (65 °C ± 10) durante 96 horas. En la figura 3, se resume el proceso para la construcción de tablas de vida.



**Figura 3.** Resumen metodología de elaboración de Tablas de vida *S. frugiperda*

## 4.7 Cálculo de los parámetros asociados con las tablas de vida

### 4.7.1 Tasa reproductiva neta (Ro)

Este parámetro representa la principal contribución neta por hembra a la próxima generación, expresada en el total de progenies hembras por hembra, durante el período completo de oviposición. Primero se calculó el número de progenies hembras que vienen de cada hembra por día ( $m_x$ ), para esto se tuvo en cuenta la proporción de hembras de cada cohorte. En segundo lugar se calculó la supervivencia acumulada por día ( $l_x$ ), para finalmente establecer la tasa reproductiva neta por medio de la siguiente fórmula:

$$R_o = \sum l_x * m_x$$

#### 4.7.2 Tiempo medio generacional (T)

Es el tiempo transcurrido entre el nacimiento de los individuos de una generación y los de la próxima. Este se calculó a partir del modelo de crecimiento exponencial, o mediante la fórmula de:

$$T = \sum l_x * m_x * X / \sum l_x * m_x$$

#### 4.7.3 Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ )

La expresión para estimar  $r_m$  se derivó del modelo de crecimiento exponencial:

$$r_m = \log_e R_0 / T$$

#### 4.7.4 Tiempo de doblaje (Dt)

Es el tiempo necesario para doblar la población inicial. Este se calculó a partir del modelo de crecimiento exponencial, considerando:

$$Dt = \ln(2) / r_m$$

#### 4.7.5 Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ )

Es el antilogaritmo de  $r_m$ . Es un factor de multiplicación de la población original por período de tiempo. La parte decimal de la tasa finita de crecimiento corresponde a la tasa semanal de incremento expresada en porcentaje:

$$\lambda = \text{Antilog } r_m$$

### 4.8 Análisis estadístico

Los efectos de las variedades sobre la tasa de consumo de las larvas y los parámetros de ciclo de vida para *S. frugiperda* se estimaron utilizando análisis de varianza (ANOVA) y separación de medias por diferencia mínima significativa (DMS) al 5% para los parámetros: a) peso seco de hembras, b) peso seco de machos, c) porcentaje de emergencia de adultos, d) relación de sexos y e) días a emergencia.

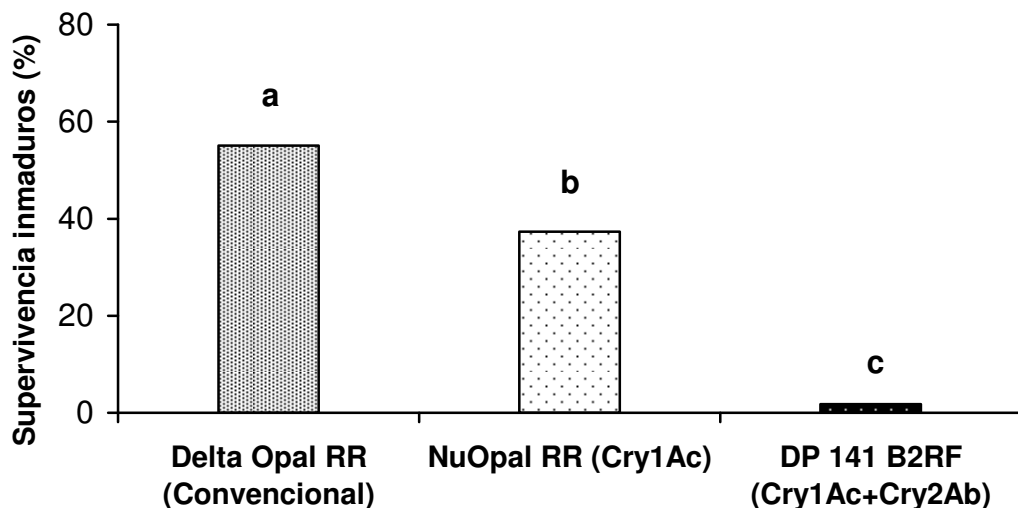
El análisis estadístico de los parámetros poblacionales ( $R_0$ ,  $r_m$ ,  $T$ ,  $\lambda$  y  $Dt$ ), no se puede hacer mediante el análisis de varianza; para este caso, la varianza se determinó empleando el método de Monte Carlo, como la prueba de Jackknife (Maia *et al.*, 2000), con el paquete estadístico SAS (SAS, 2004).

## 5. Resultados y discusión

### 5.1 Índices de crecimiento y desarrollo de *S. frugiperda*

#### 5.1.1 Supervivencia de larvas en pruebas de alimentación

Se encontraron diferencias significativas en los valores de supervivencia de las larvas cuando se alimentaron con las variedades GM. Este parámetro para larvas de *S. frugiperda* alimentadas con las hojas de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) fue de 1,8 %, cifra menor a la obtenida cuando las larvas se alimentaron con la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) que fue de 37,3 % y la variedad convencional Delta Opal RR con un 55,1 % (Fig. 4).



**Figura 4.** Supervivencia de inmaduros de *S. frugiperda* alimentados sobre variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS). (Cría para pruebas de alimentación)

Los resultados obtenidos demuestran que la acción específica de las endotoxinas sintetizadas de los genes Cry1Ac y Cry2Ab fue letal para las larvas de *S. frugiperda*, resultados similares fueron encontrados para larvas de *S. frugiperda* colectadas en diversas regiones del mundo y otras especies de lepidópteros (Gore *et al.*, 2001, Adamczyk Jr *et al.*, 2001, 2008).

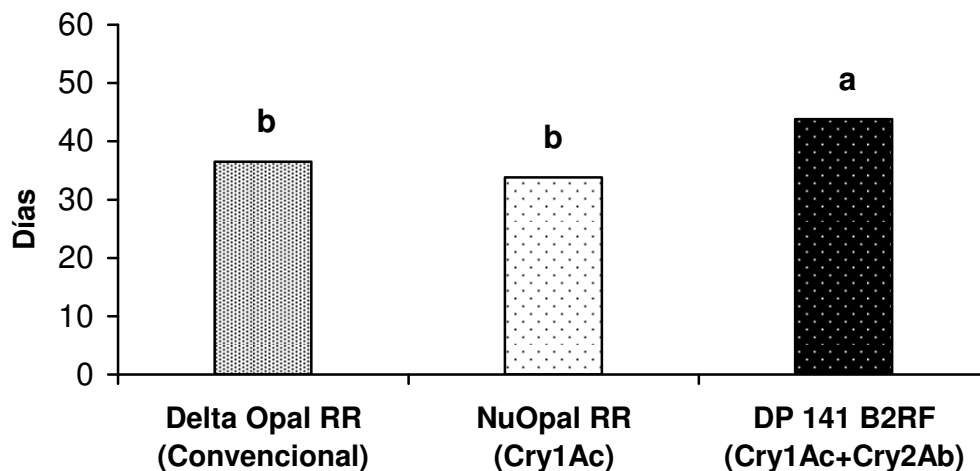
Este comportamiento coincide con lo reportado por De Sousa Ramalho *et al.* (2011), quienes reportan que la supervivencia de las larvas alimentadas con algodón Bt fue un 22.6% menor a la observada para las larvas alimentadas con algodón convencional. Otros estudios hechos bajo condiciones de laboratorio y campo han mostrado que el algodón Bt es efectivo para el control de larvas de *H. virescens*, *H. zea* y de otras especies de lepidópteros incluyendo *S. frugiperda*. Estos materiales inducen una caída en las densidades de población en cultivos del algodón (Gore *et al.*, 2001, Marchosky *et al.*, 2001, Shelton *et al.*, 2002, Wu *et al.*, 2003, Adamczyk Jr *et al.*, 2008, Greenberg *et al.*, 2010, Greenberg y Adamczyk, 2010, 2011).

Zenner *et al.* (2005) concluyeron que: 1) Después de solo una generación de alimentación con tejido vegetal de algodón modificado, el ciclo de vida de la plaga se alarga, lo cual podría disminuir el número de generaciones por año, 2) la concentración de la D-endotoxina Cry1Ac existente en cotiledones, hojas terminales y botones florales de la planta utilizada como alimento para las larvas, no causa mortalidad al insecto, pero si influye negativamente en el peso de las pupas, 3) La disminución de peso de pupas, tanto de machos como de hembras, no afecta la fertilidad y fecundidad de la plaga.

Igualmente en trabajos realizados por Zenner *et al.* (2008) afirman que desde el punto de vista del manejo del falso bellotero en el algodón modificado, la toxina Cry1Ac en las concentraciones disponibles en la planta no ejerce un control para *S. frugiperda*.

### **5.1.2 Días a emergencia (DAE)**

La duración de los días a emergencia de los adultos de *S. frugiperda* fue afectada por la variedad de la cual se alimentaron las larvas, este tiempo fue más prolongado en larvas alimentadas con la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) con 43,8 días. Para el caso de las variedades NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y convencional Delta Opal RR y no se exhibió diferencia significativa en la duración 33,8 y 36,5 días respectivamente (Fig. 5). Estos resultados coinciden con lo reportado por De Sousa Ramalho *et al.* (2011), quienes observaron una diferencia en el periodo larval entre algodón Bt y convencional de 2,8 días.



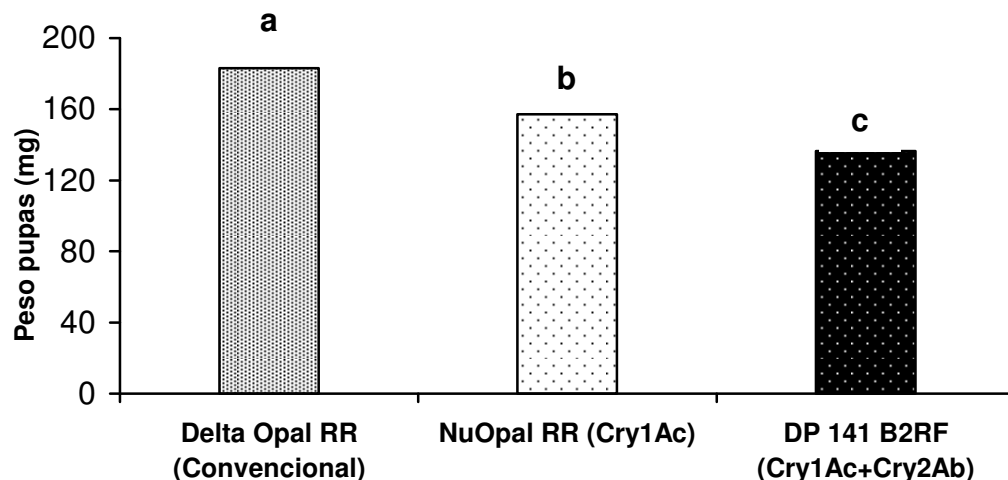
**Figura 5.** Duración de los días a emergencia de adultos de *S. frugiperda* provenientes de larvas alimentadas sobre hojas de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).

### 5.1.3 Peso de las pupas

Se observó un efecto significativo de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) sobre este parámetro; las pupas de las larvas alimentadas con este material presentaron un peso 1.34 veces menor que el peso de las larvas cuando se alimentaron con la variedad convencional Delta Opal RR (Fig. 6).

Estos resultados coinciden con los reportes de De Sousa Ramalho *et al.* (2011) quienes encontraron que las larvas alimentadas con algodón Bt exhibieron un peso 1.45 veces menor comparado con las larvas alimentadas con la variedad convencional Delta Opal RR. De igual manera, estudios con *S. exigua* muestran una relación directa entre el peso de las pupas y la fecundidad de las hembras, mostrando una fecundidad muy baja en los adultos cuando el alimento de las larvas era de baja calidad (Greenberg *et al.*, 2001, Tisdale y Sappington, 2001).

La influencia que tiene la calidad del alimento sobre el peso de las pupas de *S. frugiperda* ha sido ampliamente estudiada mediante el uso de sustratos naturales y dietas artificiales por varios autores (Pencoe y Martin, 1981, Pitre y Hogg, 1983, Parra y Carvalho, 1984, Melo y Silva, 1987, Vendramim y Fancelli, 1988).

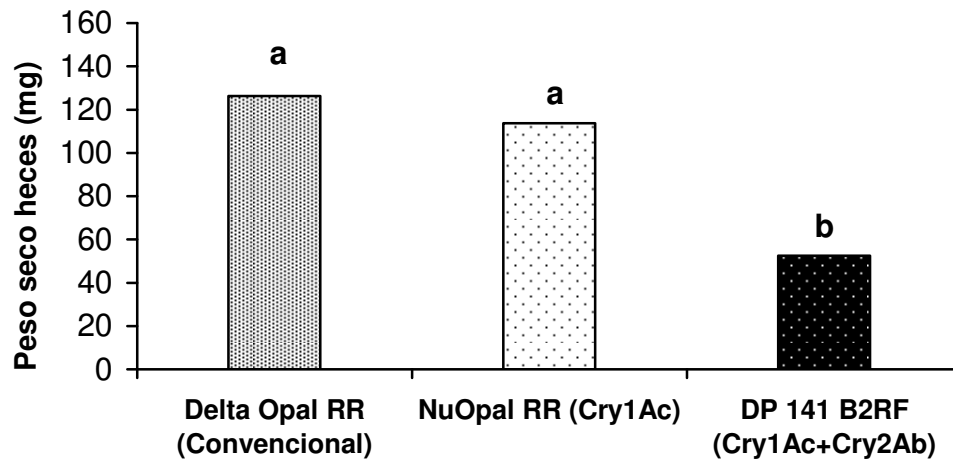


**Figura 6.** Peso de las pupas de *S. frugiperda* provenientes de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).

Williams *et al.* (1997) y Buntin *et al.* (2001), en sus respectivos trabajos observaron que el peso de las larvas de *S. frugiperda*, alimentadas con maíz GM, fue menor con respecto a las larvas que se alimentaron con maíz convencional; Por lo tanto estos autores infieren que si el peso de las larvas fue inferior en el maíz GM, es posible que el peso de las pupas obtenido también fue menor, ya que este parámetro se ve afectado directamente por la utilización nutricional de la alimentación de las larvas (Crócomo, 1983, Parra y Carvalho, 1984).

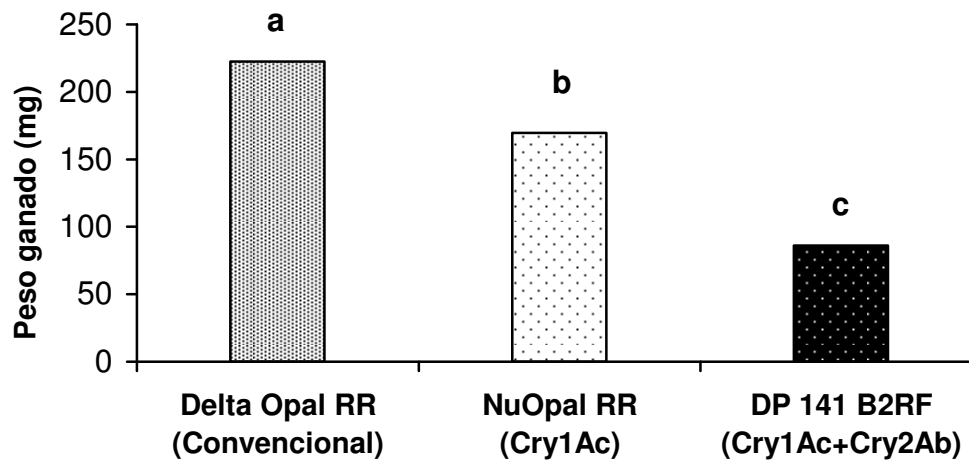
#### 5.1.4 Peso de las heces y peso ganado por las larvas

Las larvas que se alimentaron de las hojas de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) produjeron heces que pesaron 52,4 y 113,7 mg, respectivamente, valor menor al obtenido de larvas alimentadas con la variedad convencional Delta Opal RR, cuyas heces pesaron 126,7 mg (Fig. 7), estos valores son dos veces menor a los encontrados por De Sousa Ramalho *et al.* (2011), quienes evaluaron larvas de *S. frugiperda* alimentadas con una variedad de la tecnología Bollgard®.



**Figura 7.** Peso seco de heces de larvas de *S. frugiperda* alimentadas con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).

Este comportamiento fue similar para el peso ganado por las larvas donde se encontraron diferencias significativas para este parámetro. Las larvas alimentadas con la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) exhibieron un peso 58.6% menor al peso de las larvas alimentadas con la variedad convencional (Fig. 8). La calidad del alimento es un factor determinante en la utilización de alimento por parte de un insecto (Hódar *et al.*, 2002), debido a que los componentes de una planta hospedera afectan directamente los componentes del organismo que la consume (Awmack y Leather, 2002). Estudios demuestran que el consumo y la alimentación de larvas de *S. frugiperda* en variedades de la tecnología Bollgard II® puede ocurrir, pero las toxinas reducen el crecimiento y el desarrollo (Armstrong *et al.*, 2011). Estudios hechos por Fernandes *et al.* (2003), también encontraron que al alimentar larvas de *S. frugiperda* con maíz MON810 (Cry1Ab) el peso se redujo en comparación a las larvas que se alimentaron con el maíz convencional, los autores concluyen que hay un efecto negativo de la proteína Cry1Ab sobre las larvas que impide la ganancia de peso.



**Figura 8.** Peso ganado por larvas de *S. frugiperda* alimentadas con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS).

### 5.1.5 Pruebas de alimentación

Para la cantidad de alimento ingerido o tasa relativa de consumo (TRCo) no se encontraron diferencias significativas en las tres variedades utilizadas, siendo este índice de 1,36 gramos/gramos\*día ( $g/g^{-1}*d$ ) para las larvas que se alimentaron de la variedad convencional Delta Opal RR y de 1,14 y 1,32  $g/g/d$  para las larvas alimentadas con las variedades NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), respectivamente. Este índice indica que el ejercicio de comer lo hacen igual las larvas en las tres variedades pero no significa que haya asimilación del alimento, el índice de crecimiento confirma esta información debido a que las variedades GM DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) muestran un efecto antialimentario en las larvas de *S. frugiperda*, siendo el efecto inhibitor más fuerte para la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) 0,11  $g/g^{-1}*d$  (Tabla 1).

Para el caso de la Eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECI), se observó un valor significativamente más bajo para la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) (45,9%) en relación al material convencional Delta Opal RR (66,3), lo cual sugiere que los componentes del material vegetal tienen una incidencia negativa sobre las larvas y su capacidad para aprovechar los nutrientes, en resumen se puede decir que a pesar que las larvas se alimentan de

las variedades GM no metabolizan el alimento consumido por lo tanto no hay un conversión del alimento en biomasa o ganancia de peso (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) sobre el crecimiento, consumo y utilización del alimento de larvas de *S. frugiperda*.

Variedad:	TRCo (g/g <sup>-1</sup> * día)	TRCr (g/g <sup>-1</sup> * día)	ECI (%)	DA (%)
Delta Opal RR (Convencional)	1.358 a*	0.184 a	66.372 a	47.179 b
NuOpal RR (Cry1Ac)	1.141 a	0.152 b	90.806 a	38.335 c
DP 141 B2RF (Cry1Ac+Cry2Ab)	1.328 a	0.116 c	45.923 b	70.784 a

TRCo: Tasa Relativa de Consumo, TRCr: Tasa Relativa de crecimiento, ECI: Conversión del alimento ingerido, DA: Digestibilidad aproximada

\*Medias seguidas por la misma letra, dentro de cada columna, indican que no hay diferencia significativa (p<0.05, DMS)

La caída en la ECI de 1.5 veces en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR puede deberse a la concentración de la energía para la regeneración del epitelio de intestino medio dañado por las endotoxinas presentes en la variedad GM (Liithy y Wolfersberger, 2000), en lugar del crecimiento larval. Los resultados de esta investigación son similares a los reportados por Chen *et al.* (2005), para *Helicoverpa armigera* (Hübner), donde las larvas alimentadas con algodón Bt redujeron drásticamente la conversión del alimento ingerido.

La variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) causó una caída en la conversión del alimento ingerido y en la ganancia de biomasa por día sobre las larvas de *S. frugiperda*, lo cual ocasionó una caída en la producción de heces y en la ganancia de peso, mientras que para la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) se observó un efecto adverso en la ganancia de biomasa por día y en la digestibilidad aproximada, resultados que coinciden con lo encontrado por De Sousa Ramalho *et al.* (2011) en larvas de *S. frugiperda* alimentadas con el algodón Bt de la tecnología Bollgard®.

Para el caso de la digestibilidad aproximada (DA) (Tabla 1), hay una diferencia significativa para las tres variedades; las larvas de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) exhibieron el mayor valor con 1,5 veces más que la variedad convencional; cuando los valores de la DA son muy altos se asocia a una mayor retención del alimento en el intestino del insecto, permitiendo un

aumento de la digestión y absorción de nutrientes (Koul y Isman, 1991, Rossetti *et al.*, 2008). Para la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) este parámetro de DA fue 1,2 veces menor comparado con la variedad convencional, resultados similares obtuvieron Schmidt *et al.* (1997), con larvas *Spodoptera eridania* (Cramer), los autores relacionan esta disminución en la DA con daños ocasionados por extractos sobre células epiteliales y músculo liso del intestino medio, lo que puede disminuir la absorción y digestión del alimento y posterior transporte en el intestino. Otros autores como Boucias y Pendland (1998), aseguran que los valores bajos de DA se deben a que el alimento no está siendo retenido en el intestino de la larva. La rápida transición del alimento a través del tracto digestivo del insecto reduce la interacción de las enzimas proteolíticas sobre el bolo alimenticio, causando una caída en las toxinas activas en el lumen del intestino (Dinglasan *et al.*, 2009).

Las larvas alimentadas con la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) siempre mostraron menor crecimiento, así como una mayor duración de esta etapa de desarrollo, por lo que su energía la estaban utilizando para mantener la vida y no para convertirla en biomasa y terminar su ciclo, esto trajo como consecuencia que las larvas murieran en el intento de pupar y completar su ciclo biológico, se observa un impacto letal de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) sobre las larvas de *S. frugiperda*, debido a que es el tratamiento donde las pupas obtuvieron menor peso, su eficiencia de conversión del alimento fue baja, y los porcentajes de emergencia de adultos fueron muy inferiores comparados con la variedad convencional Delta Opal RR.

Estos resultados asociados con la caída en los índices nutricionales indican que la presencia de las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab en la variedad de algodón Bt, DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), tuvieron un efecto negativo para las larvas de *S. frugiperda*. Esto causa una caída en el crecimiento de las larvas y en el consumo de alimento, debido a que no hay disponibilidad de los elementos que tienen impacto directo sobre el crecimiento del insecto y las tasas de desarrollo, por tanto, el menor crecimiento de las larvas de *S. frugiperda* son el resultado de una deficiencia en la asimilación y conversión de nutrientes en biomasa corporal (Scriber y Slansky, 1981). En trabajos de Prütz y Dettner (2004), se atribuye el bajo consumo de hojas de variedades Bt, a la parálisis parcial del intestino medio ocasionado por la presencia de endotoxinas, en el tracto digestivo de las larvas.

También autores como Cooksey (1971), Gupta *et al.* (1985), Adang *et al.* (1985), Aronson *et al.* (1986), Schnepf *et al.* (1998) y Wang (2008) mencionan en sus trabajos que cuando las larvas de insectos susceptibles ingieren los cristales y esporas de Bt ocurre una parálisis en partes de la boca y del intestino, lo que lleva a un cese de la alimentación, entre otros síntomas están el vómito, diarrea, parálisis total y finalmente la muerte. Posterior al inicio de la parálisis intestinal, hay una hinchazón de las microvellosidades presentes en la superficie luminal de las células del epitelio del intestino medio, la inflamación de estas células provoca

cambios en el retículo endoplasmático y en las mitocondrias, alteración de transporte de iones y glucosa, absorción de oxígeno, pérdida de adenosin trifosfato de las células del intestino medio, y ocurre una eventual separación de las células del intestino medio de la membrana basal y el estallido de las células separadas en el lumen del intestino medio (Cooksey, 1971, Burges, 1982, Dulmage y Aizawa, 1982)



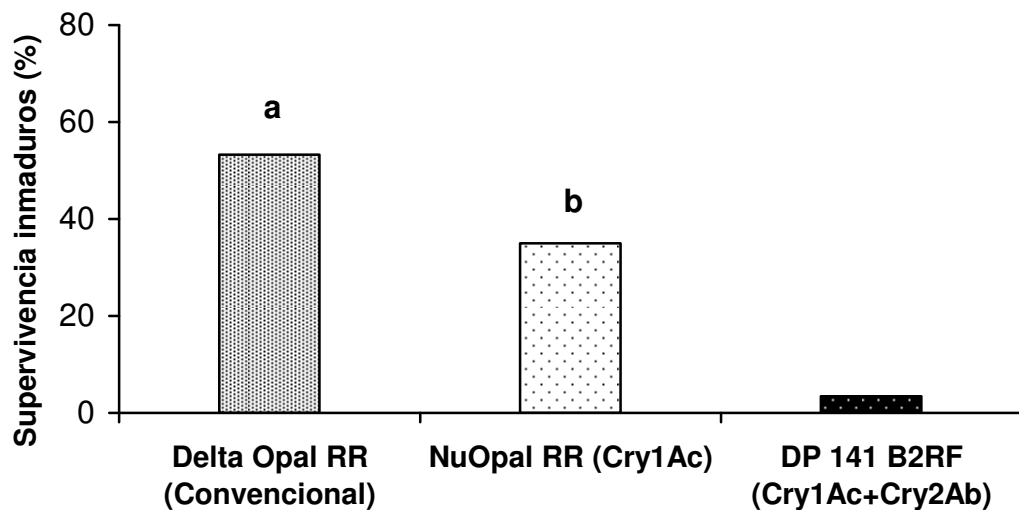
**Figura 9.** Larvas de *S. frugiperda* con síntomas de intoxicación de *Bacillus thuringiensis*, alimentadas con la variedad DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab (arriba) y larvas sanas alimentadas con la variedad convencional Delta Opal RR (abajo)

Esto desencadena una serie de eventos, conllevando a un desequilibrio osmótico en las células epiteliales y posterior rompimiento de las células, lo cual permite la entrada de las toxinas dentro del hemocele, causando la muerte por inanición y septicemia, en la figura 9 se observan los síntomas de intoxicación de Bt producto de la alimentación de las larvas de *S. frugiperda* en la variedad DP 141 B2RF

(Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), mientras que abajo se ven larvas sanas que se alimentaron con la variedad convencional Delta Opal RR.

## 5.2 Tablas de fecundidad de *S. frugiperda* sobre variedades GM y convencional

La supervivencia de larvas de *S. frugiperda* alimentadas con las hojas de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) fue de 3,4 %, este valor fue estadísticamente menor al que obtuvieron las larvas alimentadas sobre la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), las cuales exhibieron una supervivencia del 35,3%. En el caso de la variedad convencional Delta Opal RR se obtuvo una supervivencia 53,3 % (Fig. 10).



**Figura 10.** Supervivencia de inmaduros de *S. frugiperda* alimentados con variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) ( $p < 0.05$ , DMS). (Cría para construcción de Tablas de vida)

La supervivencia de larvas de *S. frugiperda* en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), se redujo significativamente con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR. La antibiosis de este material se vio reflejada en la alta mortalidad de larvas de primer y segundo instar, lo que repercutió en la menor emergencia de adultos.

## 5.2.1 Parámetros biológicos de *S. frugiperda*

### -Porcentaje de hembras

Como se observa en la tabla 2, las variedades donde se presentó menor proporción de hembras es en las variedades que expresan Bt, NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), que presentaron un 30,3 y 28,2% menos hembras comparado con la variedad convencional Delta Opal RR. Esta reducción se debe posiblemente a efectos antibióticos ocasionados por el material, ya que en condiciones de cría con dietas artificiales la relación de hembras y machos es 1:1 como lo reporta Murúa *et al.* (2003) en estudios con *S. frugiperda*.

En contraste, los trabajos hechos por Fernandes *et al* (2003), mostraron que la proporción de sexos no cambió cuando las larvas de *S. frugiperda* se alimentaron del maíz GM (MON810) y convencional durante tres generaciones evaluadas, los resultados de estos autores coinciden con los obtenidos por Giles *et al.* (2000), quienes evaluaron el efecto de los granos de maíz GM (proteínas Cry1Ab, Cry1Ac y Cry9C) sobre la biología del lepidóptero *Plodia interpunctella* Hubner, cuya proporción de sexos tampoco cambió.

**Tabla 2.** Variables medidas a partir de la cría de *S. frugiperda* sobre variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR)

Larvas alimentadas en:	Porcentaje Hembras	Peso seco de machos (mg)	Peso seco de hembras (mg)
Delta Opal RR (Convencional)	53.4 ab	234.7 a	167.4 ab
NuOpal RR (Cry1Ac)	37.2 b	162.9 b	169.7 a
DP 141 B2RF (Cry1Ac+Cry2Ab)	38.3 b	135.6 b	147.4 b

Medias seguidas por la misma letra, dentro de cada columna, indican que no hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ , DMS)

### -Peso seco de machos y hembras

El peso seco de hembras y machos presentó una disminución significativa cuando las larvas se alimentaron en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab). Para el caso de los machos, esta disminución fue de 1,7 veces

con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR y de 1,1 veces para el peso de las hembras. Esta disminución se debe a que los adultos sobrevivientes a la antibiosis vienen mal alimentados, es posible que por consecuencia de las proteínas Bt que expresan las hojas de la planta que son adversas sobre la biología de *S. frugiperda*. Como lo describe Smith (1998) una de las formas como se manifiesta la antibiosis es con la emergencia de adultos muy pequeños o malformados.

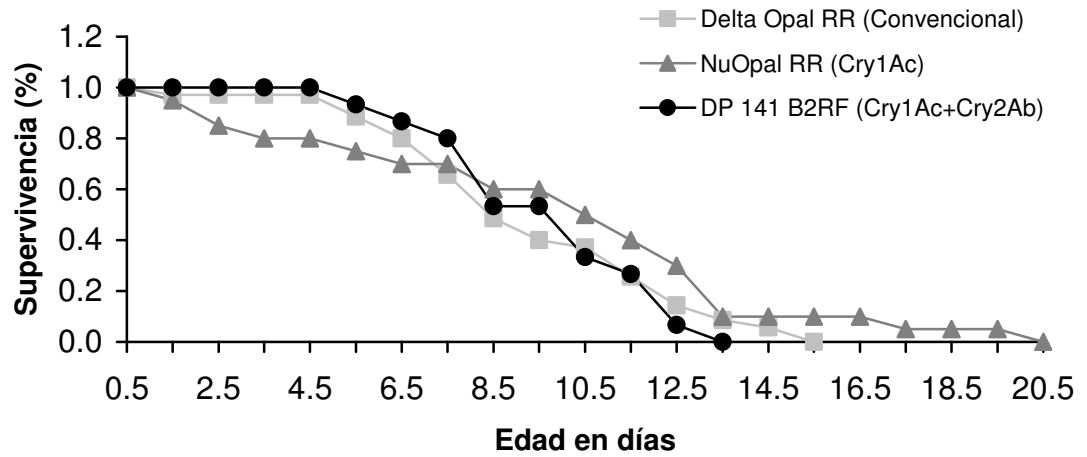
### 5.2.2 Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) e hijas esperadas ( $m_x$ )

En la figura 11 aparecen los datos de supervivencia ( $l_x$ ) para cada uno de los intervalos de edad, con estos datos se hizo el análisis estadístico mediante la técnica de Jackknife, desarrollada por Maia *et al.* (2000), que hace parte del paquete estadístico de SAS. Para estas curvas solo se toma la etapa de adulto y se asumió un 100% de supervivencia.

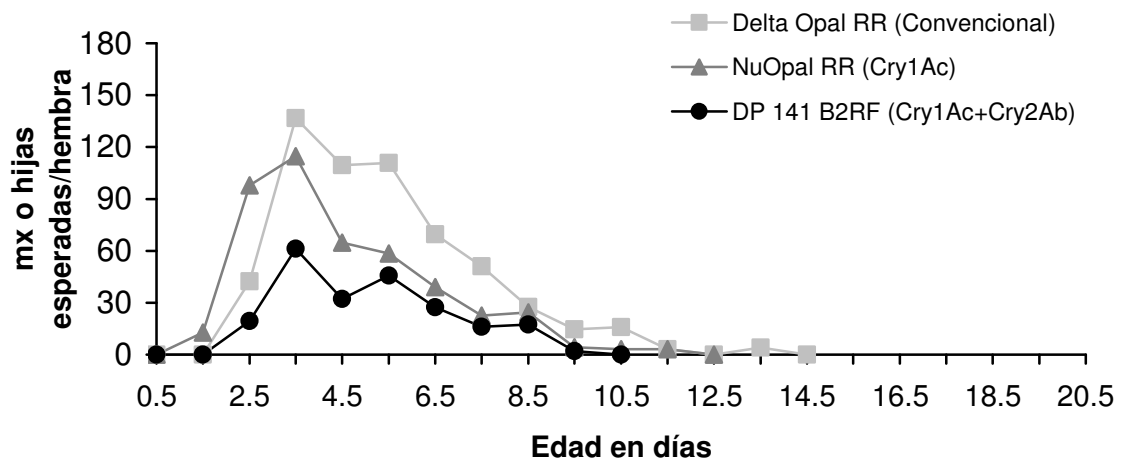
La curva de supervivencia o ( $l_x$ ) representa la proporción de individuos vivos a una cierta edad, en relación con el número inicial o edad primera. Para el caso de los adultos de *S. frugiperda* esta curva se identifica con la curva tipo I según Rabinovich (1978), que corresponde a poblaciones cuya probabilidad de sobrevivir durante todas las etapas de la vida hasta prácticamente el final es constante e igual a 1, en este caso ocurre una muerte masiva hacia las edades finales o máximas de los individuos, en decir, este tipo de curva de supervivencia refleja una mortalidad concentrada en los individuos viejos. La supervivencia ( $l_x$ ) de las hembras de *S. frugiperda* provenientes de la variedad convencional Delta Opal RR fue de dos días más a lo reportado por Barros *et al.* (2010b), quienes evaluaron el desarrollo de esta misma especie en cuatro hospederos diferentes dentro de los cuales estaba el algodón convencional. Para la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) la diferencia fue de dos días con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR, mientras que en la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) esta supervivencia se prolongó cinco días más con relación a la variedad convencional Delta Opal RR

Con respecto a la fecundidad o hijas esperadas ( $m_x$ ), todas las hembras presentaron solo un pico pronunciado de oviposición independientemente de la procedencia, este pico estuvo alrededor del día 3 y 5, y a partir de allí empieza el descenso, en términos generales mantuvieron sincronía en la oviposición (Fig. 12); las hembras provenientes de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) exhibieron una caída en la oviposición de más del 50% comparada a las hembras provenientes de la variedad convencional Delta Opal RR, lo que puede interpretarse como un efecto subletal provocada por la antibiosis en los estados inmaduros. Los resultados encontrados aquí para la variedad convencional Delta Opal RR fueron similares a los hallados por Murúa y

Virla (2004) cuando las larvas de *S. frugiperda* fueron alimentadas con maíz convencional.



**Figura 11.** Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) de *S. frugiperda* en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) (Tablas de vida de fecundidad).



**Figura 12.** Hijas esperadas ( $m_x$ ) de *S. frugiperda* en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR).

### 5.2.3 Efectos subletales causados sobre la biología reproductiva de *S. frugiperda*

Las tablas de fecundidad son muy útiles a la hora de evaluar el efecto que tiene un genotipo determinado sobre los parámetros reproductivos de los adultos de insectos, en este caso se evaluó el efecto subletal que tienen las variedades modificadas genéticamente de algodón sobre los adultos de *S. frugiperda* cuando las larvas se alimentaron de estas variedades, ya que los adultos no tienen el mismo hábito de alimentación de los estados inmaduros. Para determinar los efectos subletales se asumió un porcentaje de supervivencia de inmaduros del 100% y la edad inicial del insecto adultos como  $x=0 + 0.5$  (factor de corrección).

Los efectos subletales dependen de la variación de los parámetros evaluados, tales como la tasa reproductiva neta ( $R_o$ ), tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), el tiempo medio generacional (T) y la tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) (Maia *et al.*, 2000) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Parámetros demográficos en hembras de *S. frugiperda* provenientes de larvas criadas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) mediante tablas de vida de fecundidad.

Larvas alimentadas en:	$R_o$	$r_m$	T	$\lambda$
Delta Opal RR (Convencional)	493.95 ab	1.51 ab	4.12 a	4.49 ab
NuOpal RR (Cry1Ac)	345.93 bc	1.63 a	3.60 b	5.06 a
DP 141 B2RF (Cry1Ac+Cry2Ab)	202.55 c	1.31 b	4.06 ab	3.68 b

\*Medias seguidas por la misma letra, dentro de cada columna, indican que no hay diferencia significativa ( $p<0.05$ ) para cada comparación múltiple

#### -Tasa reproductiva neta ( $R_o$ )

Los parámetros de crecimiento de la población de *S. frugiperda* varían considerablemente dependiendo de factores como el hospedero y las condiciones ambientales (Barros *et al.*, 2010a, 2010b). En las condiciones evaluadas, las hembras que provienen de larvas alimentadas con las variedades modificadas DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) presentaron una tasa reproductiva neta ( $R_o$ ) de 58,9 y 29,9% respectivamente, inferior al obtenido con la variedad convencional Delta Opal RR, bajo las condiciones de laboratorio usadas, en ausencia de enemigos naturales y/o otros

factores de mortalidad (Tabla 3). La Ro 493.95 hembras/hembra de la variedad convencional fue 1,3 veces mayor a lo que encontraron Barros *et al.* (2010a) en algodónero, quienes evaluaron la oviposición, desenvolvimiento y reproducción de *S. frugiperda* en diferentes hospederos de importancia económica.

#### **-Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ )**

Esta define la capacidad innata de aumento de una población que crece en condiciones óptimas, es decir la expresión del potencial biótico de una población (Price, 1997). La tasa intrínseca de crecimiento para *S. frugiperda* bajo las condiciones de laboratorio varió entre 1,31 y 1,63 siendo el valor más alto para la variedad GM NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y el más bajo para la variedad GM DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) (Tabla 3). Esto sugiere que si solo se tiene en cuenta la edad adulto del insecto, el algodónero ofrece buenas condiciones para que la población crezca, ya que todos los valores son positivos. Estos valores son superiores a los reportados para *S. frugiperda* por Murúa y Virla (2004) para maíz y por Barros *et al.* (2010a) para algodónero, ambos convencionales.

#### **-Tiempo medio generacional (T)**

El tiempo medio generacional en las tablas de fecundidad solo tiene en cuenta el tiempo transcurrido desde el nacimiento de la madre hasta el nacimiento de los hijos (adulto a huevo) y no el tiempo que pasa entre una generación a otra como si ocurre en las tablas de vida completas. Para *S. frugiperda* el tiempo transcurrido para que ocurra la tasa de reemplazo mencionada anteriormente varió entre 3,6 y 4,1 días; este tiempo fue muy similar entre todas las variedades lo cual sugiere que las hembras empezaron el periodo de oviposición dentro de los primeros cuatro días de su vida y de forma sincronizada. El efecto de las variedades que consumen los estados inmaduros está reflejado en la tasa de reemplazo que logran en este tiempo los adultos (Tabla 3). En la literatura los trabajos realizados con esta especie está reportado el tiempo generacional completo, es decir el tiempo transcurrido desde el estado de huevo hasta el estado de adulto, por lo tanto no se pueden comparar los resultados encontrados en el presente trabajo.

#### **-Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ )**

La tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ ) está relacionada directamente con la tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ ), y corresponde al número de individuos que se

adicionan a una población por individuo y por unidad de tiempo (individuo/hembra/día). Para *S. frugiperda* en las variedades evaluadas la tasa finita varió entre 3,68 y 5,1 hembras/hembra/día siendo más baja esta adición en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y mientras que el mayor valor correspondió a la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) (Tabla 3).

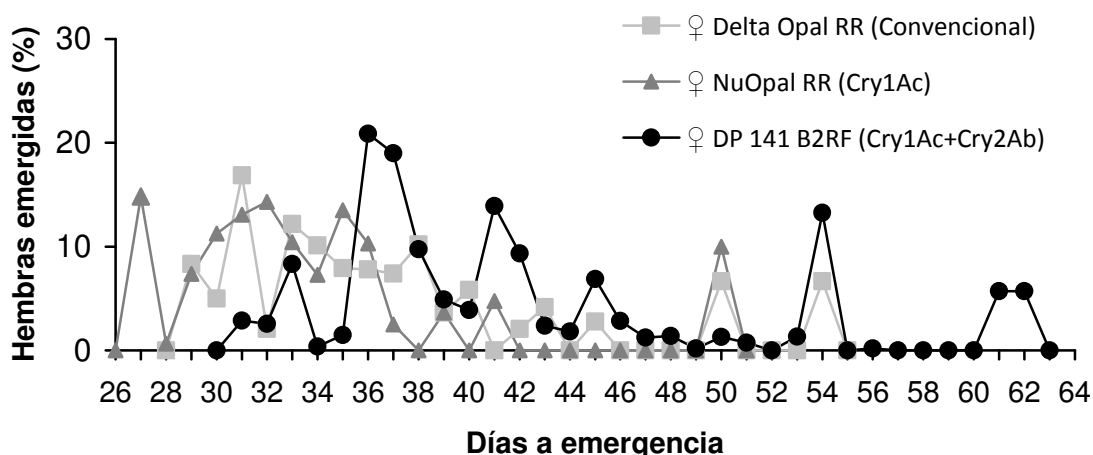
### **5.3 Tablas de vida completas para *S. frugiperda***

Las tablas de vida completas miden el impacto total que causa un material resistente al ataque de un insecto en particular sobre la biología, ya que éstas tienen en cuenta todos los estados de desarrollo del insecto, desde huevo hasta adulto. El desempeño de un hospedero, especialmente la limitación del alimento, es un factor importante en la regulación de poblaciones de insectos (Umbanhowar y Hastings, 2002), así como las características del ciclo de vida de insectos plaga pueden verse afectados por la variación en los rasgos de la planta huésped (Awmack y Leather, 2002). Por ejemplo, los parámetros del ciclo de vida tales como la fecundidad, longevidad y la supervivencia pueden estar influenciados por la variación de la calidad del hospedero (Awmack y Leather, 2002).

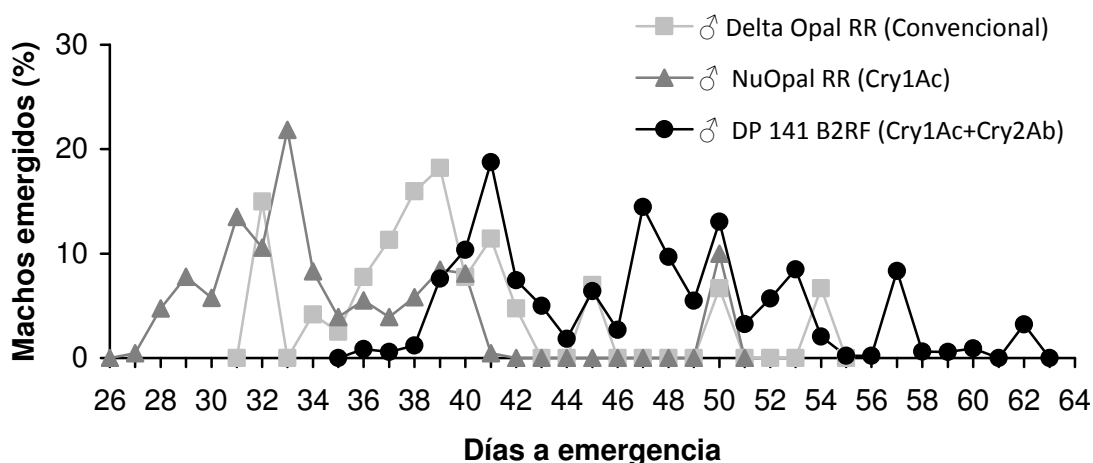
#### **5.3.1 Emergencia de adultos**

La emergencia de adultos a partir de larvas alimentadas con la variedad convencional y las GM inició entre el día 27 y 32, para el caso de las hembras (Fig. 13), para los machos entre el día 27 y 35 (Fig. 14). Las hembras y los machos que provienen de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) tardan el inicio de emergencia entre dos y siete días con respecto a las variedades convencional Delta Opal RR y NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), así mismo hembras y machos tardan alrededor de diez días más en terminar la emergencia cuando provienen de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), esta prolongación del tiempo de emergencia puede deberse a efectos deletéreos de las proteínas presentes en esta variedad sobre los estados inmaduros conforme se ha discutido anteriormente.

Los machos y hembras de la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) empezaron y terminaron la emergencia antes que los de la variedad convencional Delta Opal RR y DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab). El comportamiento de la emergencia es irregular en todos los casos. Se observó también que los machos se demoran alrededor de 5 días más para empezar a emerger con relación a las hembras a excepción de los machos de la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac).



**Figura 13.** Emergencia de hembras de *S. frugiperda* a partir de la cría de larvas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR). Días contados de huevo-adulto

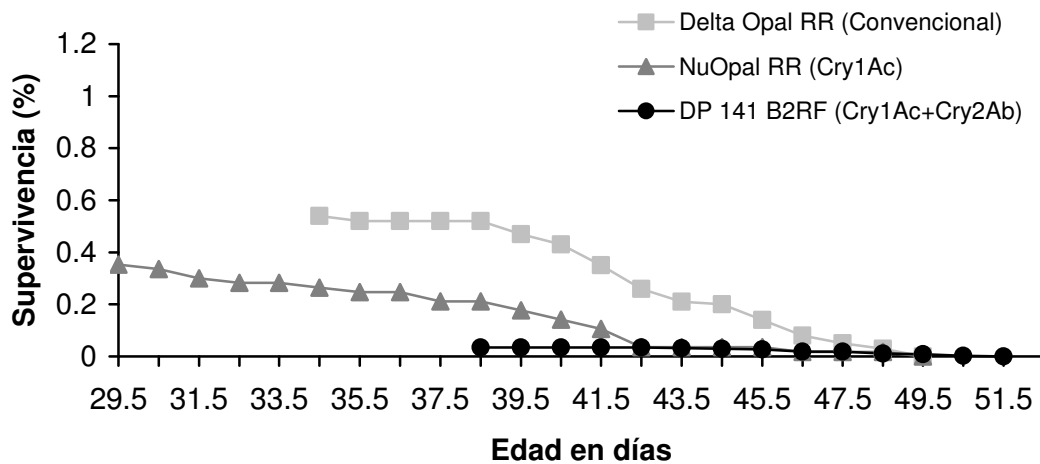


**Figura 14.** Emergencia de machos de *S. frugiperda* a partir de la cría de larvas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR). Días contados de huevo-adulto

**5.3.2 Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) e hijas esperadas ( $m_x$ ) con valores reales de supervivencia de inmaduros**

La figura 15, corresponde a las curvas de supervivencia ( $l_x$ ) usadas para el cálculo de los parámetros demográficos y la determinación del impacto total sobre la

biología de *S. frugiperda*. Los insectos provenientes de la variedad convencional Delta Opal RR exhibieron el mayor porcentaje de supervivencia (53,3%), seguido de la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) (35,0%) y la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) (3,4%). Estos resultados son similares a los encontrados por Adamczyk Jr *et al.* (2008) y Armstrong *et al.* (2011), quienes encontraron mortalidad en larvas de *S. frugiperda* por encima del 90% alimentadas con una variedad de la tecnología Bollgard II®. Aunque en estas investigaciones no se hizo el seguimiento hasta el estado adulto, por la elevada mortalidad de larvas registrada, se puede intuir que la emergencia de adultos fue muy baja.



**Figura 15.** Curvas de supervivencia ( $l_x$ ) de *S. frugiperda* en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) (Tablas de vida completas).

También se registró que los adultos provenientes de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) tardaron cinco días más en emerger con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR y nueve días más con respecto a la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac), tienen menor supervivencia, posiblemente porque vienen mal alimentados y no alcanzan a acumular suficientes reservas para cumplir con su reproducción. Algunas de las características que describe Smith (1998) para caracterizar los efectos ocasionados por la antibiosis son: la prolongación de la duración de los primeros ínstares, el aumento del tiempo de desarrollo y en consecuencia una emergencia de adultos tardía. Los valores de  $m_x$  para las tablas completas son los mismos que se usaron en las tablas de vida de fecundidad (Fig. 12).

### 5.3.3 Efectos totales sobre la biología de *S. frugiperda*

Las tablas de vida completas midieron el impacto total sobre la biología de *S. frugiperda*, a diferencia de las tablas de vida de fecundidad éstas tienen en cuenta el porcentaje real de supervivencia o adultos que logran sobrevivir al efecto de las proteínas de las variedades que son ingeridas por las larvas, para el caso de las variedades GM, así como el tiempo que transcurre entre una progenie y otra.

**Tabla 4.** Parámetros demográficos en hembras de *S. frugiperda* provenientes de larvas criadas en variedades GM (NuOpal RR Bollgard® Cry1Ac y DP 141 B2RF Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) y convencional (Delta Opal RR) mediante tablas de vida completas.

Larvas alimentadas en:	$R_o$	$r_m$	T	$\lambda$	Dt
Delta Opal RR (Convencional)	261.8 a	0.164 a	34.0 b	1.178 a	4.2 b
NuOpal RR (Cry1Ac)	121.1 b	0.158 a	30.5 c	1.171 a	4.4 b
DP 141 B2RF (Cry1Ac+Cry2Ab)	4.1 c	0.038 b	37.1 a	1.039 b	17.7 a

\*Medias seguidas por la misma letra, dentro de cada columna, indican que no hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) para cada comparación múltiple

Como se observa en la Tabla 4, en el caso de las tablas de vida completas fueron calculados todos los parámetros demográficos, incluido el tiempo de doblaje (Dt)

#### -Tasa reproductiva neta ( $R_o$ )

El número de hembras que van a reemplazar a una hembra en la siguiente generación o tasa neta reproductiva ( $R_o$ ) depende de la cantidad de hijas esperadas ( $m_x$ ) y del porcentaje de supervivencia de inmaduros ( $l_x$ ); en la Tabla 4 se observa que cuando las larvas de *S. frugiperda* provienen de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) la tasa de reemplazo se reduce en un 98,4 y 53,7% comparado con las variedades convencional Delta Opal RR y NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) respectivamente. En trabajos realizados con *S. litura* el valor de la tasa de reemplazo en tres variedades de la tecnología Bollgard II® varió entre 16.3 y 20.3, valores un poco más altos, pero debe tenerse en cuenta que es otra especie del género *Spodoptera* (Rao *et al.*, 2011).

Aunque para *S. frugiperda* no hay muchos trabajos sobre los parámetros asociados a efectos subletales en los adultos, ocasionados por variedades de algodón GM, existen numerosos registros de los efectos que ejercen algunas

variedades de la tecnología Bollgard II sobre los estados inmaduros, se reporta alta mortalidad de larvas de primer y segundo instar, bajo peso de las pupas, bajo porcentaje de producción de pupas y prolongación en los estados larvales (Stewart *et al.*, 2001, Chitkowski *et al.*, 2003, Leonard *et al.*, 2006, Adamczyk Jr *et al.*, 2008, Sivasupramaniam *et al.*, 2008, Hardke, 2011)

#### **-Tasa intrínseca de crecimiento ( $r_m$ )**

La tasa intrínseca de crecimiento depende directamente de la tasa reproductiva ( $R_o$ ) y de una forma inversa del Tiempo medio generacional ( $T$ ), por lo tanto el crecimiento innato de la población será alto en la medida que  $R_o$  sea alta y  $T$  sea bajo. Este parámetro se calcula en condiciones específicas y cada especie de insecto tiene una tasa innata determinada, por lo tanto no se puede generalizar a otras poblaciones de insectos y mucho menos en otras condiciones. Para las condiciones del ensayo, el crecimiento de *S. frugiperda* en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) se ve reducido en un 76,8% en comparación con la variedad convencional Delta Opal RR (Tabla 4). Barros *et al.* (2010a) reportaron un crecimiento innato para *S. frugiperda* de 0,216 sobre el algodónero convencional en un tiempo de 27,4 días, que equivale a 1,3 veces más de lo encontrado para la variedad convencional Delta Opal RR en esta investigación. Por su parte, Rao *et al.* (2011) reportan un crecimiento innato de 0,05 para *S. litura* sobre tres variedades de la tecnología Bollgard ®, valores muy similares a los de *S. frugiperda* en esta investigación.

Un alto valor de la tasa intrínseca de crecimiento indica la susceptibilidad de un hospedero a la alimentación de los insectos, mientras que un valor bajo indica que la planta es resistente a la plaga (Woods, 1999).

#### **-Tiempo medio generacional (T)**

El tiempo medio generacional ( $T$ ) es el transcurrido entre el nacimiento de las madres y el nacimiento de las hijas de una generación a otra, para el caso de *S. frugiperda* el tiempo varió entre 30,5 y 37,1 días en la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) respectivamente (Tabla 4). La variedad convencional Delta Opal RR tuvo un tiempo de 34,0 días, similar a lo reportado por (Barros *et al.*, 2010a) para *S. frugiperda* en el algodónero convencional.

### **-Tasa finita de crecimiento ( $\lambda$ )**

La tasa finita de crecimiento de *S. frugiperda* en la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) tuvo un descenso de 1,1 veces con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR, comportamiento similar a lo reportado para *S. litura* por Rao *et al.* (2011), donde el crecimiento finito de esta especie descendió 1,0 vez en las variedades de la tecnología Bollgard II® con respecto a la variedad convencional. Para el caso de *S. exigua* Farahani *et al.* (2011) reportan un crecimiento en algodónero convencional igual al encontrado para *S. frugiperda* en esta investigación en la variedad convencional Delta Opal RR.

### **-Tiempo de doblaje (Dt)**

Como su nombre lo indica es el tiempo necesario para que la población sea el doble de la inicial; como se observa en la tabla 4, la población de *S. frugiperda* proveniente de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), requiere 4,0 veces más el tiempo para doblar a la población inicial comparado con las variedades NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) y la variedad convencional Delta Opal RR. El tiempo de doblaje de la población de *S. frugiperda* en la variedad convencional coincide con lo reportado por Farahani *et al.* (2011), para *S. exigua* sobre algodónero también convencional. Para *S. litura* se reporta un tiempo de doblaje 2,0 veces superior en las tres variedades de la tecnología BollgardII® con respecto a la variedad convencional evaluada Delta Opal RR, lo que sugiere que las variedades GM tuvieron efectos negativos sobre el crecimiento y desarrollo de la población (Rao *et al.*, 2011)

## 6. Conclusiones

-La información obtenida sobre la actividad antialimentaria y el efecto tóxico producido por las variedades GM sobre larvas y adultos de *S. frugiperda*, induce a evaluar los efectos secundarios de las tecnologías Bt sobre este insecto. Esto con el fin de medir el impacto de estas variedades GM en los sistemas de cultivo y así poder implementar un sistema de manejo que integre el efecto negativo de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) sobre la biología y reproducción de *S. frugiperda*, con otros sistemas de control (biológico, cultural etc.), que permitan, primero mantener las poblaciones del insecto por debajo del umbral de daño, y segundo sensibilizar al agricultor sobre los beneficios y ventajas que tienen las variedades GM sobre los insecticidas tradicionales.

-Los índices metabólicos y las tablas de vida se constituyen en una herramienta útil para evaluar el impacto del hospedero sobre el huésped. Para el caso específico de cultivos genéticamente modificados poder determinar efectos secundarios de estas tecnologías sobre la biología del insecto plaga blanco.

-Aunque no se encontró diferencia significativa en el alimento consumido por las larvas, en este caso hojas de algodón GM y convencional, la tasa de crecimiento demostró que éste no fue metabolizado por las larvas y se notó un impacto negativo sobre las larvas, por lo tanto, el hecho que haya consumo no se traduce en biomasa.

-Bajo las condiciones de esta investigación la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) tuvo mayor impacto sobre el metabolismo de las larvas, así como en la biología reproductiva de *S. frugiperda*, ya que tuvo una tasa de crecimiento significativamente menor a la variedad convencional (Delta Opal RR) y una supervivencia de inmaduros que no superó el 5%, además el peso ganado por las larvas se redujo en un 50% comparado igual con la variedad convencional Delta Opal RR.

-El impacto de la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab) sobre las larvas se reflejó en efectos subletales sobre la demografía de los adultos, lo que ocasionó que la tasa de reemplazo ( $R_0$ ) se redujera en un 98% con respecto a la variedad convencional Delta Opal RR. El tiempo de doblaje se prolongó cuatro veces más con relación a la variedad convencional Delta Opal RR. Esto tendrá como consecuencia que el número de generaciones en campo durante el ciclo de cultivo del algodón.

-Para las condiciones del ensayo no se encontraron efectos contundentes ocasionados por la variedad NuOpal RR (Bollgard® Cry1Ac) en comparación con la variedad DP 141 B2RF (Bollgard II® Cry1Ac+Cry2Ab), debido a que presentó

una supervivencia por encima del 30%, sin embargo se logra una reducción en la tasa de reemplazo de un 50% comparado con la variedad convencional Delta Opal RR.

-De acuerdo a los resultados de la presente investigación el mecanismo de resistencia que ofrecen las variedades del algodón genéticamente modificadas (GM) es Antibiosis, una vez ingeridas se expresó en larvas y adultos de *S. frugiperda* en efectos fisiológicos adversos como: muerte de inmaduros tempranos (instares 1 y 2), tasas de crecimiento anormales (prolongación del ciclo de vida), conversión anormal del alimento, fallas en el proceso de pupa, fallas en la emergencia de adultos a partir de la pupa, emergencia de adultos pequeños o malformados y fecundidad reducida.

## Bibliografía

- ADAMCZYK, J. J. J., HOLLOWAY, J., LEONARD, B. & GRAVES, J. 1997. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. *Journal of cotton science.*, 1, 21.
- ADAMCZYK JR, J., ADAMS, L. & HARDEE, D. 2001. Field efficacy and seasonal expression profiles for terminal leaves of single and double *Bacillus thuringiensis* toxin cotton genotypes. *Journal of Economic Entomology*, 94, 1589-1593.
- ADAMCZYK JR, J., GREENBERG, S., ARMSTRONG, J., MULLINS, W., BRAXTON, L., LASSITER, R. & SIEBERT, M. 2008. Evaluations of Bollgard®, Bollgard II®, and Widestrike® technologies against beet and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 91, 531-536.
- ADANG, M. J., STAVER, M. J., ROCHELEAU, T. A., LEIGHTON, J., BARKER, R. F. & THOMPSON, D. V. 1985. Characterized full-length and truncated plasmid clones of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 and their toxicity to *Manduca sexta*. *Gene*, 36, 289-300.
- AGROBIO 2012. Experiencia en Colombia. Estadísticas de cultivos GM. Bogotá: Asociación de Biotecnología Vegetal Agrícola. . Disponible: <http://www.agrobio.org/fend/index.php?op=YXA9I2JXbDQmaW09I016UT0=>
- ALTIERI, M. A. 2000. The ecological impacts of transgenic crops on agroecosystem health. *Ecosystem Health*, 6, 13-23.
- ÁLVAREZ, J., ZULUAGA, J., MUÑOZ, G. & SOCOLEN-CIS 1991. Reseña histórica y aspectos bioecológicos del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Memorias Seminario Spodoptera frugiperda en sorgo, maíz y otros cultivos*.
- ÁLVAREZ, R. J. & SÁNCHEZ, G. G. 1983. Variación en el número de instares de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Revista Colombiana de Entomología (Colombia)*. (Ene-Dic), 9, 43-49.
- ANDREWARTHA, H. G. & BIRCH, L. C. 1954. The distribution and abundance of animals. *The distribution and abundance of animals*.
- ANDREWS, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 630-653.
- ARMSTRONG, S., ADAMCZYK, J. & GREENBERG, S. 2011. Efficacy of Single and Dual Gene Cotton *Gossypium hirsutum* Events on Neonate and Third Instar Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* Development Based on Tissue and Meridic Diet Assays. *Florida Entomologist*, 94, 262-271.

- ARONSON, A., BECKMAN, W. & DUNN, P. 1986. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological reviews*, 50, 24.
- AWMACK, C. S. & LEATHER, S. R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47, 817-844.
- BACHELER, J. S. & MOTT, D. W. Efficacy of Bollgard II® under non-enhanced agronomic conditions in North Carolina. In, Proceedings, 2003 Beltwide Cotton Conferences, National Cotton Council, Memphis, TN., 2003.
- BARROS, E. M., TORRES, J. B. & BUENO, A. F. 2010a. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. *Neotropical Entomology*, 39, 996-1001.
- BARROS, E. M., TORRES, J. B., RUBERSON, J. R. & OLIVEIRA, M. D. 2010b. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137, 237-245.
- BEERWINKLE, K., LOPEZ, J., WITZ, J., SCHLEIDER, P., EYSTER, R. & LINGREN, P. 1994. Seasonal radar and meteorological observations associated with nocturnal insect flight at altitudes to 900 meters. *Environmental Entomology*, 23, 676-683.
- BELLOWS, J. T., VAN DRIESCHE, R. & ELKINTON, J. 1992. Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. *Annual Review of Entomology*, 37, 587-612.
- 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. .
- BIRCH, L. 1953a. Experimental background to the study of the distribution and abundance of insects: I. The influence of temperature, moisture and food on the innate capacity for increase of three grain beetles. *Ecology*, 34, 698-711.
- BIRCH, L. 1953b. Experimental Background to the Study of the Distribution and Abundance of Insects: II. The Relation Between Innate Capacity for Increase in Numbers and the Abundance of Three Grain Beetles in Experimental Populations. *Ecology*, 34, 712-726.
- BIRCH, L. C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *The Journal of Animal Ecology*, 15-26.
- BLANCO, C. A., STORER, N. P., ABEL, C. A., JACKSON, R., LEONARD, R., LÓPEZ, J., D., PAYNE, G., SIEGFRIED, B. D., SPENCER, T. & TERAN-VARGAS, A. P. 2008. Baseline susceptibility of tobacco budworm (Lepidoptera : Noctuidae) to Cry1F toxin from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, 101, 168-173.
- BOUCIAS, D. & PENDLAND, J. C. 1998. *Principles of insect pathology*, Springer.

- BRAVO, A., GOMEZ, I., CONDE, J., MUNOZ-GARAY, C., SANCHEZ, J., MIRANDA, R., ZHUANG, M., GILL, S. & SOBERON, M. 2004. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1667, 38-46.
- BRODERICK, N. A., RAFFA, K. F. & HANDELSMAN, J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103, 15196-15199.
- BUNTIN, G. D., LEE, R. D., WILSON, D. M. & MCPHERSON, R. M. 2001. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. *Florida Entomologist*, 37-42.
- BURGES, H. 1982. Control of insects by bacteria. *Parasitology*, 84, 117.
- CADENA, T. J. 2000. Crecimiento y desarrollo de la planta de algodón y sus efectos sobre el manejo del cultivo. In: Memoria curso manejo integrado del algodón, Corpoica. Valledupar. p. 46-57.
- CANTELO, W., DOUGLASS, L., SANFORD, L., SINDEN, S. & DEAHL, K. 1987. Measuring resistance to the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in potato. *Journal of Entomological Science*, 22.
- CAREY, J. R. 1993. *Applied demography for biologists: with special emphasis on insects*, Oxford University Press, USA.
- CASMUZ, A., JUÁREZ, M. L., SOCÍAS, M. G., MURÚA, M. G., PRIETO, S., MEDINA, S., WILLINK, E. & GASTAMINZA, G. 2010. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 69, 209-231.
- CHEN, F., WU, G., GE, F., PARAJULEE, M. N. & SHRESTHA, R. B. 2005. Effects of elevated CO<sub>2</sub> and transgenic Bt cotton on plant chemistry, performance, and feeding of an insect herbivore, the cotton bollworm. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115, 341-350.
- CHITKOWSKI, R. L., TURNIPSEED, S. G., SULLIVAN, M. J. & BRIDGES, W. C. 2003. Field and Laboratory Evaluations of Transgenic Cottons Expressing One or Two *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki Berliner Proteins for Management of Noctuid (Lepidoptera) Pests. *Journal of Economic Entomology*, 96, 755-762.
- COOKSEY, K. 1971. The protein crystal toxin of *Bacillus thuringiensis*: biochemistry and mode of action. *Microbial control of insects and mites*. Academic Press, Inc., New York, 247-274.
- CRICKMORE, N., ZEIGLER, D., FEITELSON, J., SCHNEPF, E., VAN RIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J. & DEAN, D. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 807-813.

- CRICKMORE, N., ZEIGLER, D., SCHNEPF, E., VAN RIE, J., LERECLUS, D. & BAUM, J. 2008. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclatura.
- CRÓCOMO, W. 1983. *Consumo e utilizacao de milho, trigo e sorgo por Spodoptera frugiperda (JE Smith, 1797)(Lepidoptera-Noctuidae)*, ESALQ.
- DE MAAGD, R. A., BRAVO, A. & CRICKMORE, N. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *TRENDS in Genetics*, 17, 193-199.
- DE SOUSA RAMALHO, F., AZEREDO, T. L., DE NASCIMENTO, A. R. B., FERNANDES, F. S., NASCIMENTO JÚNIOR, J. L., MALAQUIAS, J. B., DA SILVA, C. A. D. & ZANUNCIO, J. C. 2011. Feeding of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, on Bt transgenic cotton and its isolate. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 139, 207-214.
- DÍAZ, J. & MONTENEGRO, T. 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. Bogota*.
- DINGLASAN, R., DEVENPORT, M., FLORENS, L., JOHNSON, J., MCHUGH, C., DONNELLY-DOMAN, M., CARUCCI, D., YATES, J. & JACOBS-LORENA, M. 2009. The *Anopheles gambiae* adult midgut peritrophic matrix proteome. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39, 125-134.
- DUBLIN, L. I. & LOTKA, A. J. 1925. On the true rate of natural increase. *Journal of the American Statistical Association*, 20, 305-339.
- DULMAGE, H. & AIZAWA, K. 1982. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in nature. *Microbial and Viral Pesticides*, 209-237.
- EDGE, J. M., BENEDICT, J. H., CARROLL, J. P. & REDING, H. K. 2001. Bollgard® cotton: an assessment of global economic, environmental, and social benefits. *Journal of Cotton Science*, 5, 121-136.
- ELLSWORTH, P., DIEHL, J. & WATSON, T. 1995a. Bt Cotton in Arizona (No. 1, rev. 6/97): What Will Change? *Univ. of Arizona Cooperative Extension*. , Disponible: <http://ag.arizona.edu/crops/cotton/insects/pbw/bt1.pdf>, p. 2.
- ELLSWORTH, P. C., D.L. MEADE & J.W. DIEHL. 1996. Bt Cotton in Arizona (No. 3, rev. 6/97): '95 Variety Results. . *University of Arizona Cooperative Extension*, Disponible: <http://ag.arizona.edu/crops/cotton/insects/pbw/bt3.pdf>, p. 2.
- ELLSWORTH, P. C., SILVERTOOTH, J. & DIEHL, J. W. 1995b. Bt Cotton in Arizona (No. 2, rev. 6/97): '94 Variety Results. . *University of Arizona Cooperative Extension*, Disponible: <http://ag.arizona.edu/crops/cotton/insects/pbw/bt2.pdf>, p. 2.
- EPA 1998. U.S. Environmental Protection Agency. The environmental protection agency's white paper on Bt plant - pesticide resistance management. Office of Pesticide Programs, Washington, D.C. No. 739-S-98- 001.
- EVANS, F. C. & SMITH, F. E. 1952. The Intrinsic Rate of Natural Increase for the Human Louse, *Pediculus humanus* L. *American Naturalist*, 299-310.

- FARAHANI, S., NASERI, B. & TALEBI, A. A. 2011. Comparative Life Table Parameters of the Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lepidoptera, Noctuidae) on Five Host Plants. *Journal of the Entomological Research Society*, 13, 91.
- FEITELSON, J. S., PAYNE, J. & KIM, L. 1992. *Bacillus thuringiensis*: insects and beyond. *Nature Biotechnology*, 10, 271-275.
- FERNANDES, O. D., PARRA, J. R., NETO, A. F., PÍCOLI, R., BORGATTO, A. F. & DEMÉTRIO, C. G. 2003. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 2.
- FLINT, H., ANTILLA, L., LEGGETT, J. & PARKS, N. 1996. Seasonal infestation by pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) of transgenic cotton, containing the Bollgard® gene, planted in commercial fields in central Arizona. *The Southwestern entomologist*, 21.
- GALLEGO, F. 1946. Plagas del maíz *Laphygma frugiperda* S. and A. *Universidad Nacional de Colombia eds (Medellín). Estudio Fundamental*, Estudio Fundamental.
- GARCIA, F. 1975. Plagas de la soya. *El cultivo de la soya en Colombia. Inst. Colombiano Agrop.(ICA), Compendio*, 6, 56.
- GILES, K. L., HELLMICH, R. L., IVERSON, C. T. & LEWIS, L. C. 2000. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize grain on *B. thuringiensis*-susceptible *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 93, 1011-1016.
- GORE, J., LEONARD, B. & ADAMCZYK, J. 2001. Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) survival on 'Bollgard®' and 'Bollgard II®' cotton flower bud and flower components. *Journal of Economic Entomology*, 94, 1445-1451.
- GREENBERG, S. & ADAMCZYK, J. 2010. Effectiveness of transgenic Bt cottons against noctuids in the Lower Rio Grande Valley of Texas. *Southwestern Entomologist*, 35, 539-549.
- GREENBERG, S., ADAMCZYK, J., ALEJANDRO, J. & HOLLOWAY, J. 2011. Approaches for improving present laboratory and field methodology for evaluation efficacy of transgenic technologies. *Southwestern Entomologist*, 36, 261-270.
- GREENBERG, S., LI, Y. X. & LIU, T. X. 2010. Effect of Age of Transgenic Cotton on Mortality of Lepidopteran Larvae. *Southwestern Entomologist*, 35, 261-268.
- GREENBERG, S., SAPPINGTON, T., LEGASPI, B., LIU, T. & SETAMOU, M. 2001. Feeding and life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 94, 566-575.
- GUPTA, B., DOW, J., HALL, T. & HARVEY, W. 1985. Electron probe X-ray microanalysis of the effects of *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* crystal protein insecticide on ions in an electrogenic K<sup>+</sup>-transporting epithelium of

- the larval midgut in the lepidopteran, *Manduca sexta*, in vitro. *Journal of cell science*, 74, 137-152.
- HAILE, F. J., BRAXTON, L., FLORA, E. A., HAYGOOD, B., HUCKABA, R. M., PELLOW, J. W., LANGSTON, V. B., LASSITER, R. B., RICHARDSON, J. M. & RICHBURG, J. S. Efficacy of Widestrike cotton against non-heliothine Lepidopteran insects. Proceedings of the 2004 Beltwide Cotton Conference, 2004. 5-9.
- HARDKE, J. T. 2011. *Contribution of Bacillus Thuringiensis Cotton Cultivars and Insecticides to a Fall Armyworm, Spodoptera Frugiperda (JE Smith), (Lepidoptera: Noctuidae) Management Strategy*. University of Arkansas.
- HERRERO, S., GONZÁLEZ-CABRERA, J., FERRÉ, J., BAKKER, P. L. & DE MAAGD, R. A. 2004. Mutations in the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ca toxin demonstrate the role of domains II and III in specificity towards *Spodoptera exigua* larvae. *Biochemical Journal*, 384, 507.
- HÓDAR, J. A., ZAMORA, R. & CASTRO, J. 2002. Host utilisation by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology*, 27, 292-301.
- HÖFTE, H. & WHITELEY, H. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological reviews*, 53, 242-255.
- HORN, D. J. 1988. *Ecological approach to pest management*, Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- HOWE, R. 1953a. Studies on beetles of the family Ptinidae. VIII. The intrinsic rate of increase of some ptinid beetles. *Annals of Applied Biology*, 40, 121-133.
- HOWE, R. 1953b. The rapid determination of the intrinsic rate of increase of an insect population. *Annals of Applied Biology*, 40, 134-151.
- JAMES, C. 2012. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2012. ISAAA Brief No. 44. ISAAA: Ithaca, NY. Disponible: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/44/executivesummary/>.
- JANSSEN, A. & SABELIS, M. 1992. Phytoseiid life-histories, local predator-prey dynamics, and strategies for control of tetranychid mites. *Experimental and Applied Acarology*, 14, 233-250.
- JARAMILLO, D., JARAMILLO, O., BUSTELLO, A. & GÓMEZ, H. 1989. Efecto del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) sobre el rendimiento del maíz. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía de Medellín*, 42, 25-33.
- KARLOVA, R., WEEMEN-HENDRIKS, M., NAIMOV, S., CERON, J., DUKIANDJIEV, S. & DE MAAGD, R. A. 2005. *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin Cry1Ac domain III enhances activity against *Heliothis virescens* in some, but not all Cry1-Cry1Ac hybrids. *Journal of Invertebrate Pathology*, 88, 169-172.
- KOGAN, M. & PARRA, J. R. P. 1981. Techniques and applications of measurements of consumption and utilisation of phytophagous insects.

- Current topics in insect endocrinology and nutrition. New York, Plenum, 362p.[Links], 337-352.*
- KOUL, O. & ISMAN, M. B. 1991. Effects of azadirachtin on the dietary utilization and development of the variegated cutworm *Peridroma saucia*. *Journal Of Insect Physiology*, 37, 591-598.
- KRATTIGER, A. F. 1997. Insect resistance in crops: a case study of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and its transfer to developing countries. ISAAA Briefs n<sup>o</sup> 2. ISAAA: Ithaca, NY. p. 42.
- LABRADOR, J. 1967. Estudios de Biología y Combate del Gusano Cogollero del maíz *Laphygma frugiperda*. U. Zulia, Fac. Agron. (Maracaibo).
- LEONARD, B., TINDALL, K., EMFINGER, K., DUGGER, P. & RICHTER, D. Fall armyworm survivorship and damage in Bollgard and Bollgard II cotton. Proc. 2006 Beltwide Cotton Conference. National Cotton Council, Memphis, TN, 2006. 1080-1084.
- LESLIE, P. & PARK, T. 1949. The Intrinsic Rate of Natural Increase of *Tribolium Castaneum* Herbst. *Ecology*, 30, 469-477.
- LESLIE, P. & RANSON, R. 1940. The mortality, fertility and rate of natural increase of the vole (*Microtus agrestis*) as observed in the laboratory. *The Journal of Animal Ecology*, 27-52.
- LIITHY, P. & WOLFERSBERGER, M. G. 2000. Pathogenesis of *Bacillus thuringiensis* toxins. *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*, 167.
- LOTKA, A. J. 1925. *Elements of physical biology*, Williams & Wilkins company.
- MAIA, A. H. N., LUIZ, A. J. B. & CAMPANHOLA, C. 2000. Statistical inference on associated fertility life parameters using Jackknife technique: computational aspects. *Journal of Economic Entomology*, 93, 511-518.
- MANUWOTO, S. & SCRIBER, J. M. 1982. Consumption and utilization of three maize genotypes by the southern armyworm. *Journal of Economic Entomology*, 75, 163-167.
- MARCHOSKY, R., ELLSWORTH, P. C., MOSER, H. & HENNEBERRY, T. 2001. Bollgard® and Bollgard II® Efficacy in Near Isogenic Lines of DP50 Upland Cotton in Arizona.
- MASON, R., BARBOSA, P. & SCHULTZ, J. 1987. Nonoutbreak species of forest Lepidoptera. *Insect outbreaks.*, 31-57.
- MELO, M. & SILVA, R. D. 1987. Influência de três cultivares de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 16, 37-49.
- MENDOZA, O. A. 2000. Desarrollo de variedades de algodón con alto porcentaje de fibra y productividad. In: Memoria curso manejo integrado del algodónero, Corpoica. Valledupar. p. 12-18.
- MONSANTO 2002. Seguridad del algodón Bollgard® evento 531, genéticamente protegido contra las orugas de las cápsulas. *Cuaderno técnico No. 4*, Disponible: <http://www.monsanto.com/global/es/noticias-y-opiniones/Documents/Cuaderno4.pdf>.

- MONTANDON, R., STIPANOVIC, R., WILLIAMS, H., STERLING, W. & VINSON, S. 1987. Nutritional indices and excretion of gossypol by *Alabama argillacea* (Hubner) and *Heliothis virescens* (F.)(Lepidoptera: Noctuidae) fed glanded and glandless cotyledonary cotton leaves. *Journal of Economic Entomology*, 80, 32-36.
- MULROONEY, J., PARROTT, W. & JENKINS, J. 1985. Nutritional indices of second-instar tobacco budworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae) fed different cotton strains. *Journal of Economic Entomology*, 78, 757-761.
- MURILLO, L. A. 1991. Distribución, importancia y manejo del complejo *Spodoptera* en Colombia. *Seminario Spodoptera Frugiperda (el Gusano Cogollero) en Sorgo, Maíz y otros Cultivos, Cali (Colombia), 13-14 Jun 1991*.
- MURÚA, G. & VIRLA, E. 2004. Population parameters of *Spodoptera Frugiperda* (Smith)(Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucumán (Argentina). *Acta Zoológica Mexicana (ns)*, 20, 199-210.
- MURÚA, M., VIRLA, E. G. & DEFAGÓ, V. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) destinada a mantener dones experimentales de himenópteros parasitoides. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 29, 43-51.
- NOTHNAGLE, P., SCHULTZ, J. & BARBOSA, P. 1987. What is a forest pest? *Insect outbreaks.*, 59-80.
- PARRA, J. & CARVALHO, S. 1984. Biología e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedades de feijão. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 13, 306-319.
- PENCOE, N. & MARTIN, P. 1981. Development and reproduction of fall armyworms on several wild grasses. *Environmental Entomology*, 10, 999-1002.
- PERLAK, F. J., OPPENHUIZEN, M., GUSTAFSON, K., VOTH, R., SIVASUPRAMANIAM, S., HEERING, D., CAREY, B., IHRIG, R. A. & ROBERTS, J. K. 2001. Development and commercial use of Bollgard® cotton in the USA—early promises versus today's reality. *The Plant Journal*, 27, 489-501.
- PITRE, H. N. & HOGG, D. B. 1983. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn (*Spodoptera frugiperda*). *Journal of the Georgia Entomological Society*, 18.
- PRICE, P. W. 1997. *Insect ecology*, John Wiley & Sons Inc.
- PRIETO, S. D. L., VAZQUEZ, P. R. I., AYRA, P. C., GONZALEZ, C. J. & DE LA RIVA, G. A. 1997. *Bacillus thuringiensis*: from biodiversity to biotechnology. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 19, 202-219.
- PRÜTZ, G. & DETTNER, K. 2004. Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111, 179-187.

- RABINOVICH, J. E. 1978. *Ecología de poblaciones animales*, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Departamento de Asuntos Científicos, Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.
- RAO, G. M. P., SUJATHA, T., GRACE, G., PRASAD, N., REDDY, V. C., KRANTHI, K., VENUGOPALAN, M., BALASUBRAMANYA, R., KRANTHI, S. & SINGH, S. Intrinsic rate of increase and life parameters of cotton leaf eating caterpillar *Spodoptera litura* on Bollgard II hybrids. World Cotton Research Conference-5, Mumbai, India, 7-11 November 2011., 2011. Excel India Publishers, 174-183.
- REYNOLDS, G., SMITH, C. & KESTER, K. 1984. Reductions in Consumption., Utilization, and Growth Rate of Soybean Looper (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Fed Foliage of Soybean Genotype PI 227687. *Journal of Economic Entomology*, 77, 1371-1375.
- RISCH, S., BARBOSA, P. & SCHULTZ, J. 1987. Agricultural ecology and insect outbreaks. *Insect outbreaks.*, 217-238.
- ROSSETTI, M. R., DEFAGÓ, M. T., CARPINELLA, M. C., PALACIOS, S. M. & VALLADARES, G. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 67, 115-125.
- SANTOS, A. O., RESTREPO, O. D., ARGÜELLES, J. & AGUILERA, E. A. 2009. Evaluación del comportamiento del complejo *Spodoptera* con la introducción de algodón transgénico al Tolima, Colombia. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 10(1), p. 24-32.
- SAS, I. 2004. *Sas/graph (r) 9.1 Reference*, Sas Inst.
- SAXENA, K. 1969. Patterns of insect-plant relationships determining susceptibility or resistance of different plants to an insect. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 12, 751-766.
- SAXENA, K., GANDHI, J. & SAXENA, R. 1974. Patterns of relationship between certain leafhoppers and plants. I. Responses to plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 17, 303-318.
- SAXENA, R. C. & PATHAK, M. D. 1977. Factors affecting resistance of rice varieties to the brown planthopper *N. lugens*, paper presented at the 8th Conf. Pest Control Council Philipp., Bacolod City, Philippines, 18-20 May.
- SCHMIDT, G., AHMED, A. A. I. & BREUER, M. 1997. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.)(lep. noctuidae). *Anzeiger für Schädlingkunde*, 70, 4-12.
- SCHNEPF, E., CRICKMORE, N., VAN RIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J., FEITELSON, J., ZEIGLER, D. & DEAN, D. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62, 775-806.
- SCRIBER, J. & SLANSKY, J. F. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*, 26, 183-211.

- SHELTON, A. M., ZHAO, J. Z. & ROUSH, R. T. 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, 47, 845-881.
- SILVA, C. A. 2005. Algodón genéticamente modificado. Disponible en: <http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Publicaciones/Algodon20Geneticamente20Modificado.pdf>.
- SILVEIRA, N. S., NAKANO, O., BARBIN, D. & VILLA NOVA, N. 1976. Manual de ecología dos insetos. *Manual de ecologia dos insetos*.
- SIVASUPRAMANIAM, S., MOAR, W., RUSCHKE, L., OSBORN, J., JIANG, C., SEBAUGH, J., BROWN, G., SHAPPLEY, Z., OPPENHUIZEN, M. & MULLINS, J. 2008. Toxicity and characterization of cotton expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins for control of lepidopteran pests. *Journal of Economic Entomology*, 101, 546-554.
- SMITH, C. M. 1998. Plant resistance to insects. *Biological and Biotechnological Control of Insect Pests*, 171-208.
- SMITH, C. M., KHAN, Z. R. & PATHAK, M. D. 1994. *Techniques for evaluating insect resistance in crop plants*, CRC.
- SOUTHWOOD, T. R. E. 1966. Ecological methods with particular reference to the study of insect populations. *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*.
- SPARKS, A. N. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomologist*, 82-87.
- STENSETH, N., BARBOSA, P. & SCHULTZ, J. 1987. Evolutionary processes and insect outbreaks. *Insect outbreaks.*, 533-563.
- STEWART, S., ADAMCZYK, J., KNIGHTEN, K. & DAVIS, F. 2001. Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 94, 752-760.
- TABASHNIK, B. E., CARRIÈRE, Y., DENNEHY, T. J., MORIN, S., SISTERTON, M. S., ROUSH, R. T., SHELTON, A. M. & ZHAO, J. Z. 2003. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. *Journal of Economic Entomology*, 96, 1031-1038.
- TISDALE, R. A. & SAPPINGTON, T. W. 2001. Realized and potential fecundity, egg fertility, and longevity of laboratory-reared female beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) under different adult diet regimes. *Annals of the Entomological Society of America*, 94, 415-419.
- TORRES, J. B. & RUBERSON, J. R. 2008. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. *Transgenic Research*, 17, 345-354.
- TRICHILO, P. J. & LEIGH, T. F. 1985. The use of life tables to assess varietal resistance of cotton to spider mites. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 39, 27-33.

- UMBANHOWAR, J. & HASTINGS, A. 2002. The impact of resource limitation and the phenology of parasitoid attack on the duration of insect herbivore outbreaks. *Theoretical Population Biology*, 62, 259-269.
- VÁZQUEZ, P., R.I., MARTINEZ-GIL, A. F., AYRA-PARDO, C., GONZALEZ-CABRERA, J., PRIETO-SAMSONOV, D. L. & DE LA RIVA, G. 1998. Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. *Biochemistry and molecular biology international*, 45, 1011.
- VÉLEZ, A. A., ARANGO I, R. E., VILLANUEVA M, D., AGUILERA G, E. & SALDAMANDO B, C. I. 2008. Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares. *Revista Colombiana de Entomología*, 34, 145-150.
- VÉLEZ, A. R. 1979. Plagas del algodón; el gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Curso Entomología económica. Notas de clase. Fac. Ciencias, U. Nal. (Medellín).
- VÉLEZ, A. R. 1997. *Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado*, Editorial Universidad de Antioquia.
- VENDRAMIM, J. & FANCELLI, M. 1988. Efeito de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 17.
- VISSER, J. Differential sensory perceptions of plant compounds by insects. In: A.C.S., E., ed. Symposium Series No. 208 Plant Resistance to Insects. American Chemical Societ, 1983 Washington. ACS Publications, 215-230.
- WALDBAUER, G. 1964. The consumption, digestion and utilization of solanaceous and non-solanaceous plants by larvae of the tobacco hornworm, *Protoparce sexta* Johan. Lepidoptera: Sphingidae. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 7, 253-269.
- WALDBAUER, G. 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect Physiol*, 5.
- WANG, P. 2008. Midgut and insect pathogens *Encyclopedia of Entomology*, pp 2386-2387 Springer, New York, NY, USA.
- WAQUIL, J. M., VILLELA, F. M. F. & FOSTER, J. E. 2002. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 1.
- WESTBROOK, J. & SPARKS, A. 1986. The role of atmospheric transport in the economic fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestations in the southeastern United States in 1977. *Florida Entomologist*, 492-502.
- WILLIAMS, W. P., SAGERS, J. B., HANTEN, J. A., DAVIS, F. M. & BUCKLEY, P. M. 1997. Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. *Crop Science*, 37, 957-962.
- WILSON, D. F., FLINT, H. M., DEATON, R. W., FISCHHOFF, D. A., PERLAK, F. J., ARMSTRONG, T. A., FUCHS, R. O. Y. L., BERBERICH, S. A., PARKS, N. J. & STAP, B. R. 1992. Resistance of cotton lines containing a *Bacillus*

- thuringiensis* toxin to pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, 85, 1516-1521.
- WOODS, H. A. 1999. Patterns and mechanisms of growth of fifth-instar *Manduca sexta* caterpillars following exposure to low-or high-protein food during early instars. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72, 445-454.
- WU, K., GUO, Y., LV, N., GREENPLATE, J. T. & DEATON, R. 2003. Efficacy of transgenic cotton containing a cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. *Journal of Economic Entomology*, 96, 1322-1328.
- ZENNER, D. P., I.Z., ARÉVALO MALDONADO, H. A., MEJÍA CRUZ, R. & DÍAZ SÁNCHEZ, J. L. 2009. *Spodoptera frugiperda*: response of different populations to the Cry1Ab toxin. *Revista Colombiana de Entomología*, 35, 34-41.
- ZENNER, D. P. I. Z., ÁLVAREZ, R. J. A., MEJÍA, C. R. & BAYONA, R. M. A. 2005. Influencia de la toxina Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* sobre el desarrollo del cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 8 (2): 129-139.
- ZENNER, D. P. I. Z., ARÉVALO MALDONADO, H. & MEJÍA CRUZ, R. 2007. El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1, 103-113.
- ZENNER, D. P. I. Z., RODRÍGUEZ, J. & ARÉVALO, H. 2008. Susceptibilidad de cuatro nóctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero. *Revista Colombiana de Entomología*, 34, 41-50.
- ZHANG, X., CANDAS, M., GRIKO, N. B., TAUSSIG, R. & BULLA JR, L. A. 2006. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Science Signalling*, 103, 9897.