

## Resultados en España con variedades de maíz derivadas de la línea MON 810, protegidas genéticamente contra taladros

C. NOVILLO, F. J. FERNÁNDEZ-ANERO, J. COSTA

Las variedades de maíz modificadas genéticamente, derivadas del evento de transformación MON 810\*, han incorporado a su información genética un gen de la bacteria del suelo *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, que codificando la producción de la proteína insecticida Cry1Ab, confiere a las plantas de maíz resistencia frente a taladros. Los resultados de 9 ensayos de campo completados durante 1997 y 1998, en las principales zonas maiceras de España, confirman su protección frente a los daños causados por larvas de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) y especies de *Sesamia*. Además, se ha podido comprobar la inocuidad de la proteína Cry1Ab frente a artrópodos auxiliares, en condiciones de campo. Por otra parte, la protección ofrecida y los resultados de producción han determinado una alta satisfacción entre los agricultores colaboradores en 90 ensayos demostrativos de fiabilidad, en 2000 y 2001. Considerando estos resultados y habiendo superado las autorizaciones medioambiental y alimentaria en la Unión Europea, el empleo de estas variedades es muy recomendable para la producción sostenible de maíz, en España, dentro de los programas de control integrado de plagas.

\* Comercializadas en EE.UU. y otros países con la marca YieldGard®

C. NOVILLO: Monsanto Agricultura España, S.L. Avda. Burgos 17, 10ª, 28036 Madrid. [conchi.novillo@ea.monsanto.com](mailto:conchi.novillo@ea.monsanto.com)

F. J. FERNÁNDEZ-ANERO: Monsanto Agricultura España, S.L. Avda. Burgos 17, 10ª, 28036 Madrid. [javier.fernandez@ea.monsanto.com](mailto:javier.fernandez@ea.monsanto.com)

J. COSTA: Monsanto Agricultura España, S.L. Avda. Burgos 17, 10ª, 28036 Madrid. [jaime.costa@ea.monsanto.com](mailto:jaime.costa@ea.monsanto.com)

**Palabras clave:** maíz Bt, MON 810, *Sesamia* spp, *Ostrinia nubilalis*, *Bacillus thuringiensis*, artrópodos auxiliares.

### INTRODUCCIÓN

Tanto *Ostrinia nubilalis* (Hübner) como las especies de *Sesamia* son plagas de importancia agronómica en las principales zonas maiceras españolas. En el caso de la primera especie es una de las plagas más importantes

en el cinturón del maíz americano (CASTAÑERA, 1986; DICKE y GUTHRIE, 1988).

El número de generaciones de estas especies es variable, aunque en la mayoría de las regiones se han citado al menos dos generaciones por año. Tanto *O. nubilalis* como las especies de *Sesamia* completan su fase larvaria en el interior de las cañas del maíz,

excavando galerías de alimentación, que disminuyen la capacidad de producción de las plantas y debilitan la resistencia de los tallos, favoreciendo el encamado y la consiguiente caída de mazorcas. Por otra parte, la alimentación directa sobre los granos de la mazorca ocasiona pérdidas cuantitativas y cualitativas, al tiempo que favorece el crecimiento de hongos que producen toxinas muy perjudiciales para el hombre, o los animales (DOWD, 1998; SOBEK y MUNKVOLD, 1999).

Los hábitos endófitos de las larvas dificultan su control mediante aplicación de productos insecticidas, bien de origen sintético o natural y la depredación por enemigos naturales, y por otra parte, sugieren el gran interés en mejorar la resistencia intrínseca de las variedades. El desarrollo de la metodología de transformación del maíz (FROMM *et al.*, 1990) y las favorables características ecotoxicológicas de las endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* (OMS, 1999; FLEXNER *et al.*, 1986) despertaron el interés en obtener líneas de maíz protegidas de los daños causados por taladros, mediante expresión de genes aislados de *B. thuringiensis*.

Diversos laboratorios han desarrollado líneas de maíz transgénico que producen proteínas procedentes de *B. thuringiensis* para protección frente a taladros (ARMS-TRONG *et al.* 1995), denominándose en términos genéricos maíz Bt. Una de las líneas obtenidas por este proceso es la línea MON 810, a partir de la cual se han derivado las variedades de maíz YieldGard®, protegidas contra taladros. Esta línea incorpora la secuencia codificante de *cryIAb* (HÖFTE y WHITELEY, 1989) aislada de *B. thuringiensis* var. *Kurstaki*, cepa HD-1, presente en los preparados microbianos que se vienen utilizando desde hace varias décadas, en agricultura.

Las variedades derivadas de la línea MON 810 fueron autorizadas en 1996 en EEUU, y desde entonces, se han cultivado en 19 millones de hectáreas en aquel país, ampliándose sucesivamente el número de híbridos que incorporan dicha modificación. Con posterioridad, otros países se han ido

sumando a su autorización, entre ellos Argentina y la Unión Europea. Así, el cultivo y consumo de maíz derivado de la línea MON 810 fue aprobado en la UE, con fecha 22 de Abril de 1998 (Diario Oficial de las Comunidades Europeas del 5/5/1998) de acuerdo con la Directiva 90/220 y con fecha 26/6/1998 respecto a la declaración de equivalencia sustancial de fracciones alimentarias procedentes de los granos de maíz, de acuerdo con el Reglamento 258/97, sobre nuevos alimentos.

Con objeto de conocer la protección ofrecida por estas variedades frente a las poblaciones de taladros y otros lepidópteros plaga, así como su comportamiento agronómico y ambiental, se vienen realizando diversos ensayos y demostraciones de campo en España, desde 1997. En este trabajo se analizan los resultados de estos ensayos y se discute la utilidad de variedades derivadas de la línea MON 810, en los programas para control integrado de taladros.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Ensayos para determinar la protección frente a taladros

En 1997 se establecieron 6 ensayos de campo, pero sólo fue posible completar cuatro de ellos situados en Alagón (Zaragoza), Albesa (Lleida) y Los Rosales (Sevilla). En 1998 se establecieron 5 ensayos: Raimat y Tornabous (Lleida), Tamarite de Litera (Huesca), Tauste-Sancho Abarca (Zaragoza) y Fontellas (Navarra). El diseño experimental en todos ellos fue de bloques al azar, con cuatro repeticiones de cada tratamiento. Los casos de estudio comprendían una variedad de maíz que incluía el evento MON 810 y su correspondiente línea isogénica, no modificada, protegidas contra taladros con un tratamiento insecticida (0.5 l/ha de deltametrina 2.5%, en el estado de maíz de 8-10 hojas) y sin protección insecticida. En 1998 las variables se redujeron a tres, al haberse comprobado el año anterior que la eficacia de MON

810 era muy alta y no existían diferencias cuando la variedad que incorporaba esta modificación se trataba frente a taladro, con insecticida. Las dimensiones de cada parcela experimental fueron 6 líneas de maíz y 12 m de longitud.

La evaluación de la protección frente a taladros se llevó a cabo sobre 10 plantas tomadas al azar de las líneas centrales de cada parcela experimental. Las cañas de las plantas se abrían longitudinalmente y se examinaba el número y las especies de taladro. Se medía la longitud de las galerías en cada planta y se examinaban las mazorcas para registrar la presencia de taladros o de *Helicoverpa armigera*. Las mazorcas se recolectaron y se desgranaron, midiendo el peso y el contenido en humedad del grano, para estimar la cosecha.

### **Ensayos para determinar el efecto sobre fauna auxiliar**

En 1998 se realizó un muestreo mediante un equipo de aspiración, que se mantenía entre 0.8 y 1.5 m de altura, durante dos minutos, mientras se caminaba por las líneas centrales de cada parcela experimental. Estas evaluaciones se realizaron en la primera semana de septiembre, tras la polinización. En la última semana de agosto se recogieron también 5 hojas para determinación de arañas depredadoras. Las hojas se colocaron en un embudo de tipo Berlesse-Tullgren durante tres días y tanto las especies recogidas en este muestreo, como las resultantes de la aspiración, fueron clasificadas utilizando microscopio binocular y claves de identificación.

En 1999, para estas evaluaciones se contó con 6 ensayos distribuidos en Aragón (Agramunt, Velilla de Cinca y Huesca) y Andalucía (Lora del Río, Coria del Río y Peñaflor), cada uno de ellos con dos parcelas de aproximadamente 0.3 ha cada una, para reducir el efecto borde sobre las evaluaciones. En una de ellas se sembró una variedad derivada de la línea MON 810 y en la otra su

correspondiente línea isogénica, no modificada. Las evaluaciones se realizaron en tres fechas: antes de floración, durante floración y tras floración del maíz, examinando visualmente 4 lotes, de 10 plantas cada uno, tomados al azar en el interior de las parcelas. También se tomó nota de las especies de malas hierbas en las parcelas y bordes, y las larvas de lepidópteros que se encontraban sobre ellas. El manejo del cultivo (siembra, riego, abonado, etc) y las decisiones sobre tratamientos insecticidas (momento de aplicación y materias activas) se realizaron de acuerdo con las prácticas de cada agricultor. Así, la parcela con maíz convencional de Lora del Río recibió un tratamiento temprano (estado de maíz 4-6 hojas) frente a taladro, con deltametrina, a dosis de 0.75 l/ha, y la correspondiente en el ensayo situado en Velilla de Cinca fue tratada con  $\lambda$ -cialotrin (0,75 l/ha), en agosto (8/8,) para protección frente a *H. armigera* y taladros. Por otra parte, todas las semillas de los ensayos situados en Huesca recibieron un tratamiento con imidacloprid.

### **Ensayos de fiabilidad**

Con objeto de contrastar la aceptación de variedades conteniendo la protección genética MON 810, durante la campaña 2000 se completaron 61 ensayos demostrativos (4 en Andalucía, 8 en Aragón, 16 en Castilla-La Mancha; 6 en Castilla-León, 9 en Cataluña y 18 en Extremadura). Durante la campaña 2001, se repitieron estos ensayos contándose con 29 campos demostrativos (3 en Andalucía, 10 en Aragón, 4 en Castilla-La Mancha, 2 en Cataluña, 6 en Extremadura, 1 en Madrid y 3 en Navarra). Tras completar el ciclo del cultivo, durante el cual el propio agricultor pudo comparar el comportamiento de una variedad que contenía MON 810 respecto a su variedad convencional, sin protección frente a taladros, se realizó una encuesta que recogiera los resultados de campo y el grado de satisfacción conseguido.

## RESULTADOS

### Protección frente a taladros

En todos los ensayos que sufrieron una infestación notable de taladros se encontró una reducción significativa del número de larvas de *Sesamia ssp* y *O. nubilalis* en los híbridos de maíz que incorporaban la protección MON 810, respecto a sus correspondientes líneas isogénicas convencionales (Figura 1; Tabla 1). Esta protección se tradujo en una mejor sanidad de las cañas al final del ciclo vegetativo, como se pone de manifiesto en la longitud media de galerías de alimentación excavadas en las cañas (Figura 2). Como resultado medio de todos los ensayos, en las parcelas sembradas con variedades derivadas de la línea MON 810, los daños ocasionados en las cañas por las larvas de taladros se redujeron en más del 95%. Otra de las consecuencias de preservar la sanidad de las cañas fue el menor índice de encamado, con resultados significativos en los ensayos situados en Alagón en 1997, donde las variedades convencionales llegaron a registrar hasta más del 40% de plantas encamadas, frente a menos del 10% registrado en las variedades que incorporaban la protección MON 810 (datos no mostrados).

Aunque no se registraron infestaciones importantes de *H. armigera*, también se comprobó una excelente protección de las variedades que contenían MON 810 (datos no mostrados).

Por otra parte, la protección ofrecida por el evento MON 810 se tradujo en una mejora sustancial de la producción. Así, las valoraciones de cosecha, a partir de las muestras de los ensayos realizados durante 1997 y 1998, muestran un incremento medio del rendimiento del 11% (1,5 Tm) con las variedades que incorporaban la protección MON 810 frente a taladros (Tabla 2).

### Artrópodos auxiliares

El seguimiento de las poblaciones de artrópodos auxiliares en los ensayos y parce-



Figura 1. Larva de *Sesamia nonagrioides* y galería de alimentación en caña de maíz convencional, sin protección frente a taladros.

las demostrativas durante 1998 y 1999, muestra una distribución ajena a la expresión de la proteína Cry1Ab, responsable de la protección frente a taladros del evento MON 810, sin que ninguna de las especies más abundantes, recogidas en los conteos, se mostrara afectada por esta modificación genética (Figuras 3 y 4).

En los muestreos realizados durante 1998 se recogieron como parasitoides más abundantes especies de las familias *Eulophidae*, *Braconidae* y *Scelionidae*, mientras que los depredadores más abundantes eran chrysopas, coccinélidos y chinches depredadoras de las familias *Miridae*, *Nabidae* y *Antocoridae*. También eran abundantes los fitoseidos. Las poblaciones recogidas en las parcelas sin tratar o tratadas con deltametrina mostraron niveles similares, seguramente como resultado del amplio periodo de tiempo que transcurrió desde la aplicación del tratamiento insecticida (maíz en estado de 8-10 hojas) hasta la realización de los muestreos.

En los muestreos sobre hojas, realizados durante 1999, se registró una clara predominancia cuantitativa de las especies de *Orius*, seguidas por otros depredadores de las familias *Coccinellidae*, *Chrysopidae*, y

Tabla 1. Número de larvas de taladro en variedades de maíz con MON 810, mejoradas genéticamente para protección frente a taladros, y sus respectivas líneas isogénicas

Ensayo	Línea maíz <sup>1</sup>	Larvas/planta <sup>2</sup>			
		<i>Ostrinia</i>	<i>Sesamia</i>	Total taladros	
<b>1997</b>	<b>Albesa</b>	MON810 ST	0,00 ± 0,00 b	0,08 ± 0,05 b	0,08
		MON810 T	0,03 ± 0,03 b	0,05 ± 0,05 b	0,08
		ISOGÉNICA ST	1,33 ± 0,37 a	2,35 ± 0,31 a	3,68
		ISOGÉNICA T	1,38 ± 0,31 a	2,52 ± 0,43 a	3,99
	<b>Alagón 1</b>	MON810 ST	0,10 ± 0,10 b	0,10 ± 0,10 b	0,20
		MON810 T	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,00
		ISOGÉNICA ST	0,40 ± 0,08 a	0,40 ± 0,08 a	0,80
		ISOGÉNICA T	0,40 ± 0,08 a	0,40 ± 0,08 a	0,80
	<b>Alagón 2</b>	MON810 ST	0,02 ± 0,03 b	0,00 ± 0,00 b	0,02
		MON810 T	0,05 ± 0,03 b	0,00 ± 0,01 b	0,05
		ISOGÉNICA ST	0,94 ± 0,14 a	0,16 ± 0,03 a	1,10
		ISOGÉNICA T	0,89 ± 0,21 a	0,16 ± 0,04 a	1,05
	<b>Los Rosales</b>	MON810 ST	0,00 ± 0,00 b		0,00
		MON810 T	0,00 ± 0,00 b		0,00
		ISOGÉNICA ST	0,67 ± 0,11 a		0,67
		ISOGÉNICA T	0,53 ± 0,42 a		0,53
<b>1998</b>	<b>Tamarite</b>	MON810 ST	0,03 ± 0,03 a	0,33 ± 0,14 b	0,36
		ISOGÉNICA ST	0,05 ± 0,03 a	4,45 ± 0,42 a	4,50
		ISOGÉNICA T	0,08 ± 0,05 a	3,55 ± 0,29 a	3,63
	<b>Raimat</b>	MON810 ST	0,08 ± 0,08 b	0,65 ± 0,19 b	0,73
		ISOGÉNICA ST	0,75 ± 0,19 a	5,88 ± 0,43 a	6,63
		ISOGÉNICA T	1,00 ± 0,31 a	6,15 ± 0,40 a	7,15
	<b>Tornabous</b>	MON810 ST	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	0,00
		ISOGÉNICA ST	0,28 ± 0,11 a	2,73 ± 0,27 a	3,01
		ISOGÉNICA T	0,40 ± 0,14 a	2,43 ± 0,43 a	2,83
	<b>Tauste</b>	MON810 ST	0,05 ± 0,03 c	0,00 ± 0,00 a	0,05
		ISOGÉNICA ST	1,38 ± 0,13 a	0,33 ± 0,16 a	1,71
		ISOGÉNICA T	0,85 ± 0,19 b	0,68 ± 0,28 a	1,53
	<b>Fontellas</b>	MON810 ST	0,05 ± 0,03 b	0,10 ± 0,10 a	0,15
		ISOGÉNICA ST	0,73 ± 0,09 a	0,38 ± 0,15 a	1,11
		ISOGÉNICA T	0,73 ± 0,14 a	0,70 ± 0,27 a	1,43

<sup>1</sup> MON 810: Híbrido con MON 810, genéticamente protegido frente a taladros. ISOGÉNICA: correspondiente línea isogénica de maíz. ST: sin tratamiento. T: con tratamiento insecticida frente a taladros (0,5 l/ha de deltametrina 2.5%; maíz con 8-10 hojas).

<sup>2</sup> Media ± ES de larvas de *Ostrinia* y *Sesania* por planta (N=4). Las medias seguidas de la misma letra no muestran diferencias significativas (P = 0,05; Student-Newman-Keuls).

Tabla 2. Producción estimada (Tm/ha) en ensayos con variedades de maíz con MON 810, mejoradas genéticamente para protección frente a taladros, y sus respectivas líneas isogénicas

Ensayo	Línea maíz <sup>1</sup>	Tm/ha <sup>2</sup>	
<b>1997</b>	<b>Albesa</b>	MON810 ST	20,04 ± 1,75
		MON810 T	22,54 ± 1,24
		ISOGÉNICA ST	16,67 ± 0,94
		ISOGÉNICA T	16,35 ± 1,91
	<b>Alagón 1</b>	MON810 ST	12,39 ± 0,62
		MON810 T	12,77 ± 0,28
		ISOGÉNICA ST	11,16 ± 0,08
		ISOGÉNICA T	11,87 ± 0,42
	<b>Alagón 2</b>	MON810 ST	12,05 ± 0,84
		MON810 T	13,79 ± 0,15
		ISOGÉNICA ST	10,24 ± 0,77
		ISOGÉNICA T	10,91 ± 0,26
<b>Los Rosales</b>	MON810 ST	15,18 ± 0,59	
	MON810 T	15,38 ± 0,39	
	ISOGÉNICA ST	15,47 ± 0,41	
	ISOGÉNICA T	14,92 ± 0,48	
<b>1998</b>	<b>Tamarite</b>	MON810 ST	9,00 ± 0,50
		ISOGÉNICA ST	8,00 ± 2,00
		ISOGÉNICA T	7,00 ± 2,50
	<b>Raimat</b>	MON810 ST	13,72 ± 0,27
		ISOGÉNICA ST	12,50 ± 0,71
		ISOGÉNICA T	12,56 ± 0,50
	<b>Tornabous</b>	MON810 ST	9,52 ± 0,52
		ISOGÉNICA ST	8,75 ± 0,63
		ISOGÉNICA T	8,39 ± 1,00
	<b>Tauste</b>	MON810 ST	11,01 ± 1,16
		ISOGÉNICA ST	10,40 ± 0,27
		ISOGÉNICA T	9,75 ± 0,35
	<b>Fontellas</b>	MON810 ST	15,89 ± 0,13
		ISOGÉNICA ST	14,64 ± 0,56
		ISOGÉNICA T	15,27 ± 0,28

<sup>1</sup> MON 810: Híbrido con MON 810, genéticamente protegido frente a taladros. ISOGÉNICA: correspondiente línea isogénica de maíz. ST: sin tratamiento. T: con tratamiento insecticida frente a taladros (0,5 l/ha de deltametrina 2.5%; maíz de 8-10 hojas).

<sup>2</sup> Media ± ES de la producción estimada (15% humedad) en ensayos de campo (N=4).

*Miridae* así como diferentes especies de *Nabis* y arañas.

La presencia de algunas especies de coccinélidos se encontraba ligada a determinadas presas, así las especies de *Coccinella* e *Hippodamia* resultaron más abundantes cuando existían pulgones, mientras que *Stethorus spp* estaba claramente asociado a la presencia de ácaros. De este modo, cuando no existieron tratamientos insecticidas, los resultados muestran una mayor influencia de la presencia de presas específicas, que del tipo de maíz, sobre las poblaciones de auxiliares y en ningún caso se registraron disminuciones de estas poblaciones en las variedades derivadas de la línea MON 810, incluso en los muestreos realizados durante la floración del maíz (Figura 4).

Considerando la abundancia de *Orius spp* y su importancia como depredador generalista, que utiliza el maíz como sustrato para oviposicionar y como huésped para depredar, y que por otra parte se alimenta de polen, se realizó un análisis más detallado de la presencia de estas especies en los muestreos realizados. Los resultados, indicados en la Tabla 3, sugieren que las variedades de maíz protegidas frente a taladros, derivadas de la línea MON 810 y su polen carecen de efecto sobre este importante depredador. Por el contrario, esta protección evitaría los efectos negativos registrados cuando se acude a la protección mediante insecticidas, como se observó en los datos recogidos en el ensayo de Velilla de Cinca.

Es también destacable el efecto negativo del tratamiento de las semillas con imidacloprid, de modo que las poblaciones de artrópodos auxiliares eran significativamente menores en aquellos ensayos donde se realizó el mismo.

Las observaciones sobre las malas hierbas presentes en las parcelas mostraron que sólo se encontraron especies de malas hierbas asociadas al cultivo de maíz y larvas de *H. armigera* alimentándose sobre éstas, sin que ninguna de ellas se haya citado como huésped específico de alguna mariposa protegida. Siguiendo las prácticas habituales,

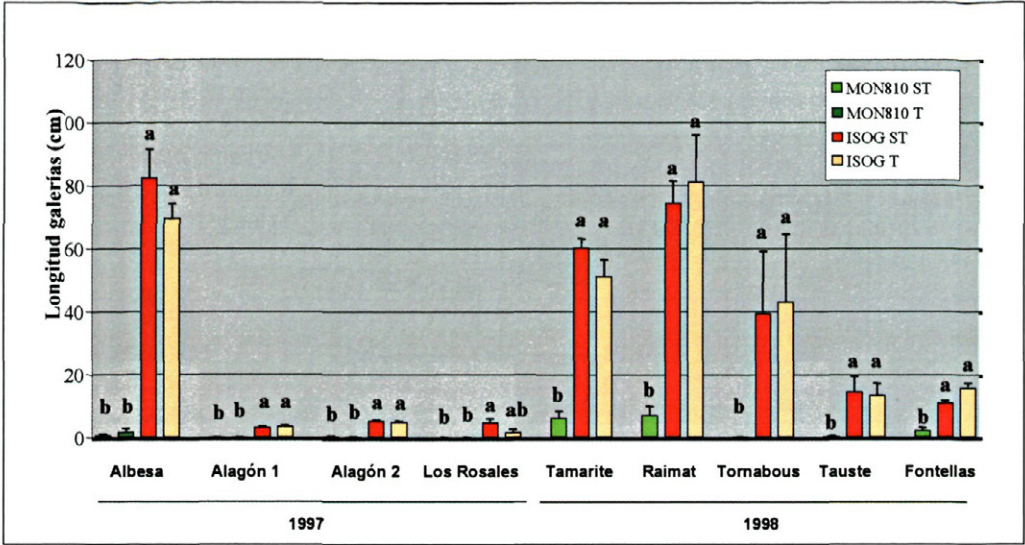


Figura 2. Longitud media (cm) de las galerías excavadas por taladros en cañas de maíz con MON 810, mejoradas genéticamente para protección frente a taladros, y sus respectivas líneas isogénicas. ST: sin tratamiento; T: con tratamiento insecticida frente a taladros.

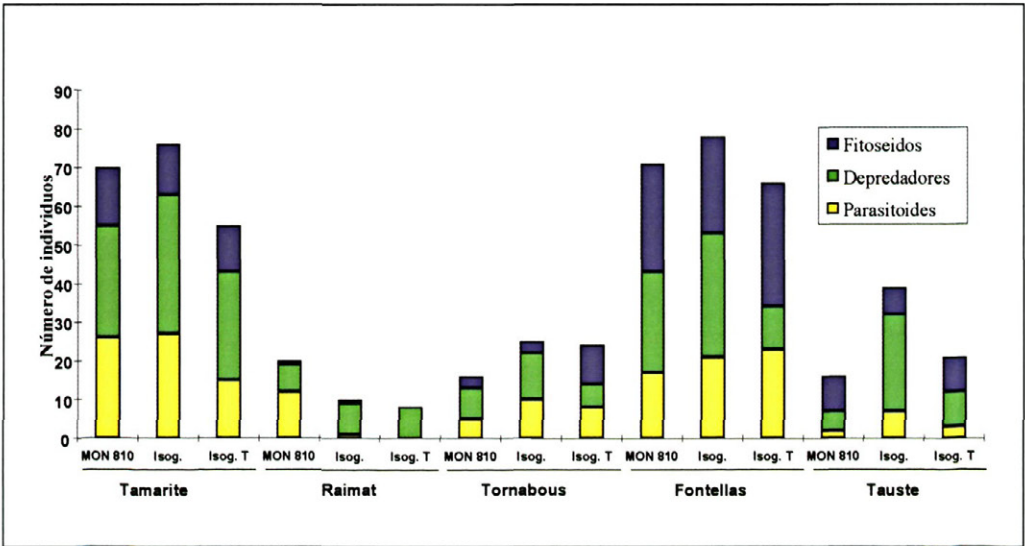


Figura 3. Número de artrópodos auxiliares en los ensayos de campo realizados durante 1998.

Los valores representados para depredadores y parasitoides indican el número de insectos recogidos en aspiraciones de dos minutos en las líneas centrales de las parcelas. Los valores indicados para los ácaros fitoseidos representan el número de individuos recogidos en 5 hojas utilizando un embudo tipo Berlesse.  
 MON 810: variedad resistente a taladros; Isog: respectiva línea isogénica convencional.  
 ST: sin tratamiento; T: con tratamiento insecticida frente a taladros.

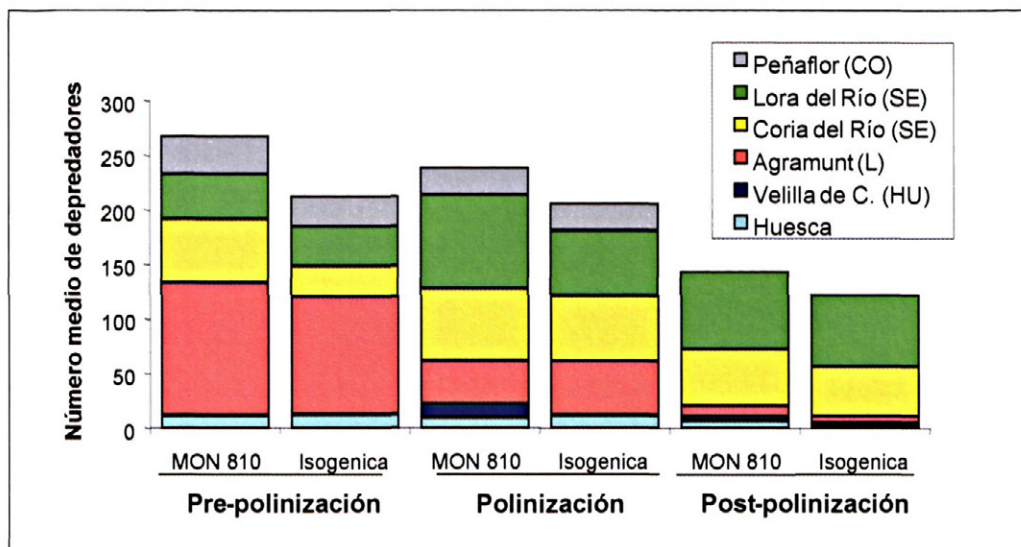


Figura 4. Número medio de artrópodos auxiliares en los ensayos de campo realizados durante 1999.

Los valores representan el número medio de depredadores en 10 plantas antes de la polinización, durante plena polinización y tras ésta (N=4), en las parcelas sembradas con variedades derivadas de la línea MON 810 y sus correspondientes líneas isogénicas.

todos los campos habían sido tratados con herbicidas de preemergencia, completados en algunos casos con tratamientos de post-emergencia. También en algunos casos se habían tratado los bordes de las parcelas con herbicidas no selectivos, para evitar el hospedaje de ácaros y otras plagas. A continuación se detallan las especies de adventicias encontradas en al menos alguno de los campos: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus spp*, *Chenopodium spp*, *Cirsium arvense*, *Convolvulus arvensis*, *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, *Daucus carota*, *Echinochloa spp*, *Foeniculum vulgare*, *Lolium sp*, *Malva spp.*, *Matricaria chamomilla*, *Medicago sativa*, *Plantago lanceolata*, *Polygonum aviculare*, *Portulaca oleracea*, *Rumex crispus*, *Setaria spp*, *Solanum nigrum*, *Sonchus oleracea*, *Sorghum halepense*, *Stellaria media* y *Veronica persica*.

### Satisfacción de los agricultores

Los ensayos demostrativos de fiabilidad con variedades protegidas frente a taladros,

derivadas de la línea MON 810, confirman que los agricultores encuentran ventajas significativas en este tipo de protección, sin haberse observado ningún efecto sobre el medio ambiente, distinto al esperado. Así en la campaña 2001, en la que existía un mayor proporción de campos demostrativos en zonas con ataques endémicos de taladro, casi la mitad de los agricultores colaboradores afirma haber obtenido incrementos de cosecha superiores a 800 kg/ha. Por otra parte en más del 90% de los casos, en ambas campañas, se afirmaba que se había observado una mayor limpieza de las mazorcas.

Finalmente, considerando las normas de trazabilidad y etiquetado que deben seguirse en la Unión Europea, cuando se les preguntó si a pesar de las mismas consideraban positivo disponer de esta tecnología para protección frente a taladros, el número de respuestas afirmativas fue superior al 90% en la campaña 2000 y un 100% en la 2001, lo cual sugiere un alto grado de satisfacción de los agricultores que han comprobado *in situ* el comportamiento de estas variedades.



Tabla 3. Número medio de *Orius spp* en 10 plantas de maíz resistentes a taladro, derivadas de la línea MON 810 y sus respectivas variedades isogénicas convencionales (1999)

Ensayo	Muestreo <sup>a</sup>	Línea de maíz	<i>Orius spp</i> <sup>b</sup>
Agramunt (L)	Pre-polinización <sup>1</sup>	MON 810	116.3±10.9a
		Isogénica	103.8±9.5a
	Polinización <sup>2</sup>	MON 810	33.3±3.0a
		Isogénica	37.3±4.5a
	Post-polinización <sup>3</sup>	MON 810	5.8±1.1a
		Isogénica	4.5±0.6a
Velilla de Cinca (HU) <sup>c</sup>	Pre-polinización <sup>4</sup>	MON 810	0.0±0.0a
		Isogénica	0.0±0.0a
	Polinización <sup>5</sup>	MON 810	10.3±2.3a
		Isogénica	0.0±0.0b
	Post-polinización <sup>6</sup>	MON 810	2.0±0.0a
		Isogénica	0.0±0.0b
Huesca	Pre-polinización <sup>7</sup>	MON 810	4.3±2.3a
		Isogénica	3.5±1.3a
	Polinización <sup>8</sup>	MON 810	2.8±1.4a
		Isogénica	2.5±1.7a
	Post-polinización <sup>9</sup>	MON 810	3.8±0.3a
		Isogénica	0.5±0.5b
Coria del Rio (SE)	Pre-polinización <sup>10</sup>	MON 810	51.8±4.2a
		Isogénica	23.5±3.4b
	Polinización <sup>11</sup>	MON 810	46.3±8.7a
		Isogénica	45.3±2.9a
	Post-polinización <sup>12</sup>	MON 810	27.5±2.7a
		Isogénica	30.3±5.5a
Lora del Rio (SE)	Pre-polinización <sup>13</sup>	MON 810	35.3±3.8a
		Isogénica	31.5±3.1a
	Polinización <sup>14</sup>	MON 810	79.5±7.9a
		Isogénica	54.2±2.5b
	Post-polinización <sup>15</sup>	MON 810	58.8±2.9a
		Isogénica	55.5±6.6a
Peñaflor (CO)	Pre-polinización <sup>16</sup>	MON 810	32.8±1.6a
		Isogénica	26.8±3.3a
	Polinización <sup>17</sup>	MON 810	14.3±1.6a
		Isogénica	16.0±1.2a

<sup>a</sup> Las fechas de muestreo variaron según cada localidad: <sup>1</sup> 27 jul; <sup>2</sup> 11 ago; <sup>3</sup> 2 sep; <sup>4</sup> 4 ago; <sup>5</sup> 19 ago; <sup>6</sup> 8 sep; <sup>7</sup> 9 ago; <sup>8</sup> 26 ago; <sup>9</sup> 16 sep; <sup>10</sup> 12 jul; <sup>11</sup> 10 ago; <sup>12</sup> 17 ago; <sup>13</sup> 13 jul; <sup>14</sup> 9 ago; <sup>15</sup> 20 ago; <sup>16</sup> 9 ago; <sup>17</sup> 27 ago.

<sup>b</sup> Media ± ES del número de los *Orius spp* (adultos + ninfas) en 10 plantas (N=4). Las medias seguidas de la misma letra, no muestran diferencias significativas (P=0,05; Test de Dunnet).

<sup>c</sup> La parcela con maíz convencional de Velilla de Cinca fue tratada con l-cyhalothrin (0.75 l/ha) para protección frente a *H. armigera* y taladros el 8 de agosto.

## DISCUSIÓN

Utilizando los últimos avances en biología molecular se han desarrollado diversas líneas de maíz resistentes a taladros por expresión de diferentes proteínas Cry, lo que ha originado distintas variantes, o eventos de transformación, conocidos genéricamente como maíz Bt. La diferencia entre ellos radica en el tipo de proteína y patrón de expresión de la misma en la planta, y cada una de ellas se evalúa y autoriza caso por caso. Con el desarrollo de todas ellas se espera obtener una mayor eficacia y selectividad de la actividad insecticida, que cuando se utilizan insecticidas sintéticos o preparados microbianos para control de taladros (DE MAAGD *et al.*, 1999).

La construcción utilizada en la línea de maíz MON 810 incluye el gen *cry1Ab* y el promotor constitutivo 35S CaMV, que extiende la protección ofrecida por la proteína Cry1Ab a todos los órganos y durante todo el ciclo de cultivo. Las variedades de maíz que incorporan la modificación MON 810 ensayadas en España muestran una excelente protección frente a los daños causados por los taladros *O. nubilalis* y especies de *Sesamia* en todo el ciclo del cultivo y una reducción de *H. armigera* en las mazorcas (Tabla 1, Figura 2). Estos resultados son acordes con la experiencia acumulada con ensayos de campo, desde 1993, y campos comerciales, desde 1996, en EEUU.

Considerando los hábitos endófitos de las larvas de taladros y las dificultades que entraña su control, la disponibilidad de variedades que ofrezcan una resistencia intrínseca a estas plagas ha demostrado beneficiar al agricultor, simplificándole el cultivo, evitándole pérdidas y reduciendo la potencial exposición a insecticidas químicos, lo que ha determinado una rápida y amplia adopción de la tecnología por los agricultores maiceros americanos (GIANESSI y CARPENTER, 1999). Asimismo, los agricultores españoles que han evaluado estas variedades en sus parcelas de cultivo han valorado positivamente poder disponer de esta tecnología

en nuestro país y resulta notable que a pesar de las exigencias de etiquetado y trazabilidad que se requieren en la UE, más del 90% de los agricultores colaboradores se muestran interesados en esta tecnología.

Los incrementos de cosecha conseguidos varían de acuerdo con la intensidad y el momento de las infestaciones. De acuerdo con las estimaciones americanas, cada larva de *O. nubilalis* en fechas críticas de desarrollo de la planta, supone una pérdida del 5% de la cosecha potencial de maíz, daños que pueden ser superiores con *Sesamia*, considerando su mayor tamaño y voracidad. Por otra parte, se ha podido comprobar la relación entre daños causados por taladro y las infecciones de *Fusarium moniliforme* en grano, que produce fumonisinas, una clase de micotoxinas muy peligrosas para los animales y el hombre (SOBEK y MUNKWOLD, 1999). Las investigaciones realizadas con variedades que incluyen la protección MON 810 han demostrado que pueden reducir los niveles de podredumbres en mazorca y niveles de fumonisinas en el grano (Figura 5), hasta niveles superiores al 90%, comparados con



Figura 5. La presencia de fumonisinas en el grano como consecuencia del ataque de los taladros en mazorcas, como las de la figura, se reduce significativamente en las variedades con protección MON 810.

los híbridos que no portaban esta protección. (MUNKWOLD *et al.*, 1997; MUNKWOLD *et al.*, 1999). La menor contaminación por micotoxinas en granos protegidos con MON 810 ha sido constatada en Italia (PIETRI y PIVA, 2000), Francia y España, habiéndose recogido muestras de grano en el campo de Agramunt y otro campo demostrativo en Lanaja, durante 1999 (CAHAGNIER y MELCION, 2000). Los resultados de las encuestas recogidas durante las campañas 2000 y 2001 en España, reiteran la observación de una mayor calidad en el grano, probablemente debida tanto a la significativa reducción de larvas de taladro y *H. armigera*, como a la mejor sanidad de las cañas que evitó el encamamiento de las plantas.

La secuencia completa de la proteína Cry1Ab expresada en la línea MON 810 y la forma activa, producida en el intestino de los insectos tras su ingestión, son idénticas a las respectivas, cadena completa y forma activa, de la proteína Cry1Ab contenida en las formulaciones microbianas, lo que extiende la selectividad atribuida a estas formulaciones (MACINTOSH *et al.*, 1990), y su inocuidad para enemigos naturales o artrópodos no objeto de la protección del cultivo, (FLEXNER *et al.*, 1986; EPA, 1988). Los estudios con variedades derivadas de esta línea sobre distintos organismos representativos, como abejas (*Apis mellifera*), chrysopas (*Chrysopa carnea*), un himenóptero parásito de la mosca doméstica (*Brachymeria intermedia*); coccinélidos (*Hippodamia convergens*), lombrices de tierra (*Eisenia fetida*), colémbolos (*Folsomia candida*) y pulga de agua (*Daphnia magna*) han confirmado la selectividad esperada, mostrando que concentraciones de proteína Cry1Ab muy superiores al máximo posible de exposición en campo, carecen de efecto sobre este grupo de especies. (SANDERS *et al.*, 1998)

Por otra parte, en seguimientos de campo, se ha constatado la falta de efectos adversos para tres especies de depredadores frecuentes en el maíz: *Coleomegilla maculata*, *Orius insidiosus* y *Chrysoperla carnea* (PILCHER *et al.* 1997), y la evaluación de las

poblaciones de depredadores y parasitoides de huevos de *O. nubilalis*, ha mostrado niveles semejantes en la variedad de maíz Bt que en su línea isogénica (ORR y LANDIS, 1997).

El seguimiento de las poblaciones de artrópodos auxiliares en España, ha mostrado una distribución semejante en parcelas con híbridos que incorporaban la protección MON 810 y sus respectivas líneas convencionales, no modificadas (Figuras 3 y 4), mientras que otras prácticas autorizadas, como los tratamientos de semillas y aplicaciones para control de taladros sobre el cultivo, pueden afectar la presencia y abundancia de estas especies.

Aunque en estudios de laboratorio se encontró que las larvas de mariposa Monarca, *Danaus plexippus*, son susceptibles a la proteína Cry1Ab (LOSEY *et al.*, 1999), los estudios de campo posteriores con diversas modificaciones para protección frente a taladro, entre ellas la modificación genética MON 810, han mostrado que el riesgo para las monarcas es despreciable, pues tanto la toxicidad del polen producido por las variedades derivadas de esta línea, como la exposición en condiciones de campo son bajas (SEARS *et al.*, 2001; STANLEY-HORN *et al.*, 2001; OBERHAUSER *et al.*, 2001; HELLMICH *et al.*, 2001; PLEASANTS *et al.*, 2001). También se ha comprobado que el polen del maíz Bt derivado del evento MON 810 carece de efecto sobre la mariposa *Papilio polixenes* (WRAIGHT *et al.*, 2000). Aunque ninguna de estas especies se han citado en zonas maiceras españolas, no se espera que el cultivo de variedades con la protección MON 810 sea una amenaza para otras especies de mariposas ya que no se ha encontrado la asociación a este cultivo de ninguna especie protegida y en cualquier caso la protección ofrecida por esta modificación es más selectiva que los actuales tratamientos que se aplican para control de taladros.

Los resultados de los ensayos realizados en nuestro país con variedades derivadas de la línea MON 810, recogidos en esta publicación, son acordes con la experiencia acumulada en EEUU, donde su autorización ha

sido prorrogada por la EPA en otros 7 años, y en otros países. Para preservar los beneficios de esta tecnología y retrasar la aparición de resistencias en las poblaciones de taladros, será importante que se realice un manejo adecuado de estas variedades, incorporándolas a los programas de control integrado de plagas de maíz y diseñando un plan apropiado para prevenir y retrasar la aparición de resistencias en las poblaciones de taladros. En aquellos países donde se comercializan

estas variedades la implementación de este plan, en el que colaboran científicos, agricultores, administración y empresas, está dando sus frutos, sin que se haya registrado hasta el momento un cambio en la sensibilidad a la proteína Cry1Ab. Las bases para poner en marcha un plan similar en España, han comenzado por el establecimiento de la sensibilidad de las poblaciones iniciales (GONZÁLEZ-NÚÑEZ *et al.*, 2000) y un seguimiento detallado de su variación año tras año.

#### ABSTRACT

NOVILLO C., F. J. FERNÁNDEZ-ANERO, J. COSTA. 2003. Performance of insect-protected corn varieties derived from Bt line MON810, in Spain. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 427-439.

Genetically modified corn derived from event MON 810 is protected against corn borer by expressing the Cry1Ab insecticidal protein from the soil bacterium *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Nine representative field trials, completed during 1997 and 1998 in different corn-growing areas in Spain, have confirmed the efficacy of MON 810 corn against *Ostrinia nubilalis* (Hübner), and *Sesamia* spp. In addition, these trials confirmed the safety of MON 810 corn to beneficial arthropods. A survey of farmers who cooperated in 90 reliability trials, undertaken in Spain in 2000 and 2001, have also confirmed a high degree of satisfaction with the performance and yield of MON 810 corn. Considering these results, and given the environmental and food approval of MON 810 corn in the European Union, the cultivation of MON 810 corn varieties is highly recommended as a sustainable, integrated pest management tool for corn production in areas where corn borers are endemic.

**Key words:** *Sesamia* spp, *Ostrinia nubilalis*, *Helicoverpa armigera*, *Bacillus thuringiensis*, Bt corn, beneficial arthropods, MON 810.

#### REFERENCIAS

- ARMSTRONG, C.L., PARKER, G.B., PERSHING, J.C., BROWN, S.M., SANDERS, P.R., DUNCAN, D.R., STONE, T., DEAN, D.A., DEBOER, D.L., HART, J., HOWE, A.R., MORRISH, F.M., PAJEAU, M.E., PETERSEN, W.L., REICH, B.J., RODRIGUEZ, R., SANTINO, C.G., SATO, S.J., SCHULER, W., SIMS, S.R. STEHLING, S. TAROCHIONE, L.J. y FROMM, M.E. 1995. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Crop Science* **35**(2):550-557.
- CACHAGNIER, B. y MELCION D., 2000. Mycotoxines de *Fusarium* dans les maïs-grains a la recolte: relation entre la presence d'insectes (pyrale, sesamie) et la teneur en mycotoxines. *Proc. 6<sup>th</sup> Int. feed Production Conference, Piacenza*: 237-249.
- CASTAÑERA P. 1986. Plagas del Maíz. IV Jornadas Técnicas sobre el Maíz, Lérida. *Plagas*: 1-24. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid.
- DE MAAGD, BOSCH, y STIEKEMA, 1999. *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants. *Trends in Plant Science*, **4**(1), 9-13.
- DICKE, F.F. y GUTHRIE, W.D. 1988. The most important corn insects, pp 769-880. *In* Corn and Corn Improvement Third Edition. G.F. Sprague and J.W. Dudley (ed). American Society of Agronomy Inc., Madison, WI.
- DOWD, P.F. 1998. Involvement of arthropods in the establishment of mycotoxigenic fungi under field conditions, pp. 307-350 *In* Mycotoxins in Agriculture and Food Safety (Sinha, K.K., and Bhatnagar, D., (eds) Marcel Dekker, NY

- EPA. 1988. Guidance for the registration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as the active ingredient. NTIS PB 89-164198.
- FLEXNER, J.L., LIGHTHART, B. y CROFT, B.A. 1986. The effects of microbial pesticides on non-target beneficial arthropods. *Agric. Ecosys. Environ.* **16**:203-254.
- FROMM, M.E., MORRISH, F., ARMSTRONG, C., WILLIAMS, R., THOMAS, J., y KLEIN, T.M. 1990. Inheritance and expression of chimeric genes in the progeny of transgenic maize plants. *BioTechnology* **8**:833-839.
- GIANESSI, L.P. y CARPENTER, J.E. 1999. Agricultural Biotechnology: Insect Control Benefits. National Center for Food and Agricultural Policy, Washington, D.C.
- GONZÁLEZ-NUÑEZ M., ORTEGO F. y CASTAÑERA P. 2000. Susceptibility of Spanish Populations of the Corn Borer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* Endotoxin. *J. Econ. Entomol.* **93**(2): 459-463.
- HELLMICH R.L., SIEGFRIED B.D, SEARS M., STANLEY-HORN D.E, DANIELS M.J, MATTILA H.R, SPENCER T, BIDNE K.G y LEWIS L.C. 2001. Monarch Larvae Sensitivity to *Bacillus thuringiensis* Purified Proteins and Pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**: 11925-11930.
- HÖFTE, H. y WHITELEY, H. R. 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Reviews* **53**:242-255.
- LOSEY, J.E., RAYOR, L.S., y CARTER, M.E. 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature.* **399**: 214.
- MACINTOSH, S.C., STONE, T.B., SIMS, S.R., HUNST, P.L., GREENPLATE, J.T., MARRONE, P.G., PERLAK, F.J., FISCHHOFF, D.A., y FUCHS. R.L. 1990. Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. *J. Invert. Path.* **56**:258-266.
- MASOERO, F., MOSCHINI, M., ROSSI, F., PRANDINI, A., y PIETRI, A. 1999. Nutritive value, mycotoxin contamination and in vitro rumen fermentation of normal and genetically modified corn (Cry1A(b)) grown in northern Italy. *Maydica* **44**: 205-209.
- MUNKVOLD, G.P., HELLMICH, R.L. y SHOWERS, W.B. 1997. Reduced Fusarium ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology* **87**(10):1071-1077.
- MUNKVOLD, G.P., HELLMICH, R.L. y RICE, L.G. 1999. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic *Bt* maize hybrids and nontransgenic hybrids. *Plant Dis.* **83**(2):130-138.
- OBERHAUSER K.S, PRYSBY M.D, MATTILA H.R., STANLEY-HORN D.E., SEARS M.K, DIVELY G, OLSON E, PLEASANTS J.M, LAM W.F y HELLMICH R.L. 2001. Temporal and Spatial Overlap between Monarch Larvae and Corn Pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**: 11913-11918.
- OMS, 1999. *Bacillus thuringiensis*. World Health Organization, Environmental Health Criteria 217, 105 pp. Geneva, Switzerland.
- ORR, D.B. y LANDIS, D.A. 1997. Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. Econ. Entomol.* **90**(4): 905-909.
- OSTLIE, K.R., HUTCHISON W.D. y HELLMICH R.L. 1997. Bt-corn and European corn borre. Long term success through resistance management. North Central Region Extension Publication NCR 602. (<http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystem/s/DC7055.html>)
- PIETRI, A., y PIVA, G., 2000. Occurrence and control of mycotoxins in maize grown in Italy. *Proc. 6<sup>th</sup> Int. feed Production Conference, Piacenza*: 226-236.
- PILCHER, C.D., OBRYCHI, J.J., RICE M.E. y LEWIS, L.C. 1997. Preimaginal development, survival, field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* **26**:446-454.
- PLEASANTS J.M, HELLMICH R.L, DIVELY G.P, SEARS M.K, STANLEY-HORN D.E, MATTILA H.R, FOSTER J.E, CLARK P y JONES G.D. 2001. Corn Pollen Deposition on Milkweeds in and near Cornfields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**: 11919-11924
- SANDERS, P.R., LEE, T.C., GROTH, M.E., ASTWOOD, J.D. Y FUCHS, R.L. 1998. Safety assessment of insect-protected corn, pp 241-256. *In Biotechnology and Safety Assessment*, 2<sup>nd</sup> ed; Thomas, J.A. Ed., Taylor and Francis.
- SEARS M.K, HELLMICH R.L, STANLEY-HORN D.E, OBERHAUSER K.S, PLEASANTS J.M, MATTILA H.R, SIEGFRIED B.D y DIVELY G.P. 2001. Impact of Bt Corn Pollen on Monarch Butterfly Populations: A Risk Assessment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**: 11937-11942.
- SOBEK, E.A. y MUNKVOLD, G.P. 1999. European corn borer (Lepidoptera:Pyralidae) larvae as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptomless infection of maize kernels. *J. Econ. Entomol.* **92**: 503-509.
- STANLEY-HORN D.E, DIVELY G.P, HELLMICH R.L, MATTILA H.R, SEARS M.K, ROSE R, JESÉ L.C, LOSEY J.E, OBRYCKI J.J y LEWIS L. 2001. Assessing the Impact of Cry1Ab-Expressing Corn Pollen on Monarch Butterfly Larvae in Field Studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**: 11931-11936.
- WRAIGHT, C.L., ZANGERL, A.R., CARROLL, M.J. y BERENBAUM, M.R. 2000. Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **97**(14): 7700-7703.

(Recepción: 16 septiembre 2002).

(Aceptación: 26 noviembre 2002).