

Enfoques prácticos del Manejo de la Resistencia de los Insectos para los Cultivos Derivados de la Biotecnología



Índice

AGRADECIMIENTOS	2
ABREVIATURAS	2
TERMINOLOGÍA	3
1. RESUMEN EJECUTIVO	5
2. INTRODUCCIÓN	6
2.1 Gestión responsable del producto (Stewardship)	6
2.2 Cultivos derivados de la biotecnología protegidos contra insectos	6
2.3 Manejo de la resistencia de los insectos	6
3. DESARROLLO DE UN PLAN DE MRI ROBUSTO	8
3.1. Biología y ecología de las plagas principales	8
3.2. Estrategias para la utilización del producto	9
3.2.1. <i>Características insecticidas apiladas versus individuales</i>	11
3.2.2. <i>Sistemas de cultivo locales</i>	13
3.2.3. <i>Opciones de siembra</i>	13
3.2.4. <i>Opciones alternativas para el manejo de plagas</i>	14
4. HERRAMIENTAS PARA EL MANEJO DE LA RESISTENCIA DE INSECTOS	15
4.1 Refugios estructurados	15
4.2 Inspección del lote y aplicación de insecticidas según las necesidades	15
4.3 Limitar el uso de múltiples cultivos con las mismas proteínas insecticidas	15
4.4 Fijar un tope de ventas para limitar la penetración en el mercado	16
4.5 Siembra y destrucción de los rastrojos	16
4.6 Resistencia endógena y buenas prácticas de manejo del cultivo	16
4.7 Uso de múltiples características contra la misma plaga blanco	16
5. LÍNEA BASE DE SUSCEPTIBILIDAD Y MONITOREO DEL DAÑO	18
6. MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS	20
7. COMPROMISO, EDUCACIÓN Y COMUNICACIÓN	21
8. EJEMPLOS DE PLANES DE MRI	23
8.1 Estudio de caso: requisitos del MRI para el algodón Bt en India	25
9. IMPLEMENTACIÓN DE REFUGIOS ESTRUCTURADOS	26
9.1. Flexibilidad	26
9.2. Distribución de las semillas	27
9.3. Educación y comunicación al productor	27
9.4. Manejo del refugio	27
9.4.1. <i>Planificación</i>	27
9.4.2. <i>Siembra</i>	29
9.4.3. <i>Toma de registros</i>	29
9.5 Monitoreo de la implementación de los refugios	30
9.6 Informes	30
10. PLANES DE ACCIONES DE REMEDIACIÓN	31
11. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	32
12. REFERENCIAS	33
Apéndice 1. RESUMEN DE LOS PUNTOS PRINCIPALES	35
Apéndice 2. REGISTRO DE LA SIEMBRA DEL REFUGIO	37
Apéndice 3. REGISTRO DEL MONITOREO	38
Apéndice 4. EJEMPLOS DE PROGRAMAS DE MRI LOCALES Y REGIONALES	39

Agradecimientos

Este manual de entrenamiento fue desarrollado a partir de la publicación *Managing the Risk of Insect Resistance to Transgenic Insect Control Traits: Practical Approaches in Local Environments*¹ escrito por Susan C. MacIntosh (MacIntosh & Associates, Incorporated, 1203 Hartford Avenue, Saint Paul, MN 55116-1622) para CropLife International. Se obtuvo información adicional de los académicos y del conjunto de diapositivas *How to Develop an Insect Resistance Management Plan: Practical Approaches for Local Environments* desarrollado por el Comité de Acción de Resistencia de Insectos de CropLife International. El Comité de Acción de Resistencia de Insectos (IRAC, por las siglas en inglés de *Insect Resistance Action Committee*) es financiado por las compañías miembros del Grupo de Trabajo del IRAC de Biotecnología Vegetal: Bayer CropScience, Dow AgroSciences LLC, E.I. du Pont De Nemours and Company, Monsanto Company y Syngenta Plant Sciences.

Abreviaturas

ABSTC	Comité Técnico de Gestión Responsable de la Biotecnología Agrícola (<i>Agriculture Biotechnology Stewardship Technical Committee</i>)
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
CC/AC	Control de la Calidad/Aseguramiento de la Calidad
CICR	Instituto Central de Investigación en Algodón (<i>Central Institute of Cotton Research</i>)
GEAC	Comité de Aprobación de Ingeniería Genética (<i>Genetic Engineering Approval Committee</i>)
IRAC	Comité de Acción de Resistencia de Insectos (<i>Insect Resistance Action Committee</i>)
MIP	Manejo integrado de plagas
MRI	Manejo de la Resistencia de Insectos (o IRM, por <i>Insect Resistance Management</i>)
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (sus siglas en inglés: OECD)
US-EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (<i>United States Environmental Protection Agency</i>)

¹ En español: *Manejo del riesgo de resistencia de los insectos a las características transgénicas de control de insectos: Enfoques prácticos en ambientes locales.*

Terminología

Acuerdo con el productor: se refiere a un acuerdo entre el productor y el proveedor de tecnología, que se establece al comprar el material de siembra y que puede incluir requisitos para el manejo de la resistencia de los insectos para cada combinación cultivo-característica-área geográfica, además de otras prácticas de uso responsable del producto.

Acumulación de genes: se refiere a la introducción en un cultivo de dos o más transgenes que pueden estar relacionados con características diferentes.

Agricultura sostenible: se refiere a la combinación de métodos agrícolas con los objetivos comunes de proveer mayor ganancia en la producción, logrando una gestión más responsable del medioambiente y beneficiando a las familias y a las comunidades en el presente sin comprometer la capacidad de que futuras generaciones logren los mismos objetivos.

Alta dosis: se refiere a las combinaciones característica-insecto donde la característica es suficientemente efectiva y el insecto blanco es suficientemente sensible, de modo tal que muy pocos de los insectos expuestos, si es que alguno, sobrevivan. Ha sido definida como la dosis necesaria para controlar los insectos blanco que son heterocigotos para los alelos de resistencia.

Apilamiento de genes: se refiere a un caso especial de acumulación de genes (“pyramiding” en inglés) donde dos o más transgenes se combinan en un cultivo otorgando cada uno de ellos actividad insecticida contra la(s) misma(s) plaga(s) blanco de modo tal de combinar al menos dos modos de acción diferentes.

Área geográfica: se refiere a la región donde crece el cultivo. Los requisitos para el manejo de la resistencia de los insectos pueden variar dependiendo de los factores presentes en diversas áreas geográficas.

Autoridad regulatoria: se refiere a cualquier autoridad regulatoria nacional que pueda estipular las condiciones del manejo de la resistencia de los insectos para la producción de los cultivos derivados de la biotecnología.

Bt: proteína insecticida obtenida de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, o Bt. Es una fuente de protección contra insectos comúnmente usada en los cultivos derivados de la biotecnología.

Cultivo derivado de la biotecnología²: se refiere a los cultivos mejorados por técnicas de ingeniería genética.

Calculadora de refugio: se refiere a una tabla de fórmulas provista para asistir a los productores en el cálculo de las medidas aceptables del área refugio.

Característica: se refiere a la característica determinada genéticamente.

Diapausa: se refiere al período de inactividad o descanso en respuesta a condiciones ambientales adversas, especialmente el invierno, durante el cual los insectos suspenden el desarrollo.

Distribuidor de semillas: se refiere a la compañía u organización local que distribuye las semillas a los productores para la producción de los cultivos.

MRI (o IRM): se refiere al manejo de la resistencia de los insectos y detalla las medidas a tomar para retrasar el desarrollo de la resistencia al método de control de plagas en las poblaciones de los insectos blanco.

Plagas blanco principales: se refiere a aquellas plagas en un sistema agrícola que son las que producen el mayor daño económico a los cultivos y que son el blanco principal de la característica introducida para la protección contra insectos.

Plagas primarias y secundarias: se refiere a las plagas dominantes y las plagas menos importantes para el cultivo, en función del tamaño poblacional típico y los niveles de daño que causan.

Productor: se refiere a un productor agrícola que compra material de siembra protegido contra insectos a través de la biotecnología.

² N.T.: En la presente versión en español se usan como sinónimos los términos “cultivo derivado de la biotecnología”, “cultivo transgénico”, “cultivo genéticamente modificado” y “cultivo GM”.

Terminología

Protegido contra insectos: se refiere a los cultivos que han sido desarrollados para resistir el daño causado por ciertos insectos plaga específicos.

Proveedor de la característica: se refiere a la compañía o centro público que desarrolla características nuevas para los cultivos transgénicos y las pone a disposición para el mejoramiento de las semillas.

Refugio: se refiere a un área del mismo cultivo, o de vegetación silvestre, que no contiene el mismo mecanismo de protección contra insectos derivado de la biotecnología.

Transgén: se refiere a un gen o material genético que ha sido transferido de un organismo a otro por técnicas de ingeniería genética.

Umbral: se refiere a los niveles de daño causado por plagas que afectarán el rendimiento del cultivo. Los umbrales se determinan para la combinación específica plaga-cultivo-área geográfica y se encuentran disponibles consultando a los extensionistas y proveedores de semillas.

1. Resumen Ejecutivo

Los productores han adoptado rápidamente los cultivos derivados de la biotecnología mejorados con el objetivo de expresar proteínas para el control de insectos, porque proveen una excelente protección contra las plagas clave en todo el mundo. Los cultivos protegidos contra insectos también ofrecen más beneficios para el ambiente y la salud, al mismo tiempo que incrementan los ingresos de los productores. Sin embargo, el desarrollo de la resistencia en los insectos es una preocupación importante para todos los actores de la cadena, incluyendo los productores, los proveedores de tecnología y las compañías semilleras que desarrollan los cultivos derivados de la biotecnología. Dados los beneficios asociados con las semillas protegidas contra insectos, debe considerarse especialmente el manejo de la resistencia de los insectos (MRI) al momento de producir estos cultivos. Es importante que las preocupaciones acerca de la resistencia de los insectos no impidan el uso de los cultivos transgénicos, sino más bien, que resulten en programas de manejo y gestión responsable que efectivamente retrasen la generación de resistencia y permitan, a su vez, aprovechar los beneficios de la tecnología para el ambiente y la agricultura.

La información técnica y la experiencia práctica acumulada con estos cultivos por desarrolladores, investigadores y productores en el mundo puede orientar sobre los aspectos del manejo de la resistencia que lleven a planes de MRI robustos y basados en la ciencia. Para diseñar una estrategia de MRI, se debe considerar un conjunto de elementos, incluyendo:

- La biología/ecología de las plagas blanco principales;
- La sensibilidad de los insectos plaga a las características de protección contra insectos y la eficacia de las mismas;
- Características acumuladas *versus* características individuales;
- Patrones de uso del producto;
- Sistemas de cultivos locales, y
- Disponibilidad de opciones alternativas para el manejo de plagas, incluyendo las opciones de control biotecnológico, químico, biológico y cultural.

Es importante, además, el monitoreo de los insectos para medir cualquier cambio en la susceptibilidad de los mismos al cultivo protegido. A su vez, la comunicación a todos los actores involucrados permite informar a los usuarios finales del producto acerca de los lineamientos y requisitos de la gestión responsable del MRI. Se debe desarrollar la infraestructura necesaria de modo tal que se pueda diseñar e implementar un plan de acción de remediación en caso que se desarrolle la resistencia. Cada uno de estos elementos se describen en este manual en mayor detalle, con ejemplos específicos de cómo pueden ser combinados y adaptados a la medida de los ambientes y prácticas de los productores a nivel local/regional.

Los planes de manejo de la resistencia de los insectos necesitan ser adecuados para cada situación productiva. Lo que funciona para los grandes sistemas de producción basados en unos pocos cultivos en América del Norte y del Sur es poco probable que sea apropiado para la pequeña agricultura diversificada de África o del sudeste asiático.

Es claro que los cultivos protegidos contra insectos representan un valor considerable para los productores, y está en el interés de todas las partes preservarlos dado los beneficios a largo plazo que otorgan.



2. Introducción

2.1 GESTIÓN RESPONSABLE DEL PRODUCTO (STEWARDSHIP)

La gestión responsable del producto (“stewardship” en inglés) se define como el manejo responsable de un producto desde su desarrollo hasta su uso y discontinuación (ETS, 2009). En el ámbito de la biotecnología vegetal, la gestión responsable del producto incluye la introducción y el uso responsables de los productos derivados de la biotecnología a lo largo de todo el ciclo de vida del producto vegetal, desde la idea, pasando por el desarrollo y lanzamiento, hasta su discontinuación. La gestión responsable del producto es una responsabilidad compartida por toda la cadena de valor, incluyendo los desarrolladores de la tecnología, los productores de las semillas, los distribuidores/vendedores de semillas, los agricultores y sus asesores, y los consumidores.

El programa de manejo de la resistencia de los insectos, uno de los primeros programas de gestión responsable que abarca a toda la industria, se introdujo en conjunto con el lanzamiento de los cultivos genéticamente modificados (GM) protegidos contra insectos a mediados de la década de 1990. Para la primera generación de cultivos con características insecticidas (maíz Bt y algodón Bt) en los EE.UU., se considera que las características se expresan en “alta dosis” contra varios insectos blanco, y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) trabajó en conjunto con los proveedores de la tecnología, los científicos de las universidades y los productores para desarrollar los planes de MRI basados en la estrategia de “alta dosis/refugio”. Al desarrollar los planes de MRI, fue importante mantener los requisitos del refugio de manera simple y flexible. Por su parte, las compañías que desarrollaron la tecnología acordaron implementar programas de comunicación para ayudar a que los productores comprendieran las necesidades y los beneficios de las áreas de refugio y también implementar programas de adhesión al monitoreo.

Se han formado organizaciones locales, regionales e internacionales que unen a los proveedores de la tecnología, a las organizaciones de productores y a los académicos para tratar temas científicos claves para el uso responsable de los productos de la biotecnología en la agricultura moderna. Por ejemplo, en los Estados Unidos de Norteamérica el **Comité Técnico de Gestión Responsable de la Biotecnología Agrícola** (ABSTC por sus siglas del inglés *Agriculture Biotechnology Stewardship Technical Committee*) es una unión de compañías biotecnológicas que tiene un rol clave en la interacción productor-industria para el MRI. Existen organizaciones similares en todos los países donde se cultivan comercialmente los cultivos Bt. El **Comité de Acción de Resistencia de Insectos**

(IRAC, por sus siglas del inglés *Insect Resistance Action Committee*), un grupo de técnicos especializados de la asociación de industrias CropLife Internacional, se ha comprometido a proporcionar lineamientos adicionales para el desarrollo de los planes de MRI de modo de atender las preocupaciones de las partes involucradas.

2.2 CULTIVOS DERIVADOS DE LA BIOTECNOLOGÍA PROTEGIDOS CONTRA INSECTOS

Ya se comercializan cultivos que expresan diferentes proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) para el control de insectos, y otros productos adicionales se encuentran en desarrollo. Los productores han adoptado con entusiasmo los cultivos GM (maíz, algodón, papa y arroz) que expresan diferentes proteínas insecticidas (Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab, mCry3Aa, Cry3Bb, Cry3Aa, Cry34/35, Vip3A), dado que estos cultivos otorgan una excelente protección contra insectos dañinos clave en distintas regiones del mundo (James, 2010). Existe un historial de uso seguro de estas proteínas, tanto para el ambiente como para la salud humana (Betz *et al.*, 2000; OECD, 2007; US-EPA, 2001). Evaluaciones recientes han demostrado que estas características otorgan un valor económico a los países adoptantes a través de mayores ingresos para los productores (Brookes y Barfoot, 2006; Gianessi, *et al.*, 2002). El valor de esta tecnología puede ser incrementado a través del manejo responsable apropiado, como los planes de MRI, que puede prolongar la eficacia de las características contra los insectos blanco.

2.3 MANEJO DE LA RESISTENCIA DE LOS INSECTOS

A lo largo del último siglo, cientos de especies de insectos han desarrollado resistencia a una o más medidas de control, impactando severamente en la economía de la producción de los cultivos. La mayoría de los casos de resistencia de insectos hasta la fecha involucra insecticidas químicos sintéticos (Yu, 2008), pero también se ha desarrollado resistencia a algunos agentes microbianos, tales como las formulaciones para rociado con Bt (Ferré and Van Rie, 2002). La evolución de la resistencia de los insectos es una preocupación actual para los usuarios de los sistemas de protección de cultivos, incluyendo a quienes utilizan aplicaciones de insecticidas, prácticas culturales y resistencia en la planta hospedadora.

El objetivo del manejo de la resistencia es retrasar la evolución de la resistencia en las poblaciones de la plaga expuestas a la herramienta de control.

La resistencia puede y ha evolucionado a todas las formas de manejo de plagas, incluyendo las herramientas químicas, biológicas y culturales, y no es una preocupación única a los cultivos GM. Sin embargo, los beneficios de las características GM de protección contra insectos se consideran tan valiosas que los proveedores de la tecnología y otros actores involucrados han puesto especial énfasis en prolongar su durabilidad retrasando la tasa de desarrollo de la resistencia en los insectos blanco. Se dispone de múltiples tácticas para preservar la durabilidad de las tecnologías de manejo de insectos, incluyendo el uso de la tecnología solo contra las poblaciones de plagas económicamente más dañinas, alternando entre diferentes tácticas de control, o integrando múltiples tácticas en un programa de manejo de plagas.

3. Desarrollo de un plan de MRI robusto

Usando un enfoque de manejo del riesgo, los desarrolladores y productores implementan prácticas que retrasarán el desarrollo de la resistencia en los insectos plaga a estos nuevos cultivos. Este enfoque proactivo para idear e implementar estrategias de manejo de resistencia ayudará a asegurar que la nueva tecnología sea efectiva por muchos años, de modo tal que los productores, los consumidores y el ambiente se puedan beneficiar de su efectividad.

Los planes de MRI duraderos y basados en ciencia se han fundamentado en una colección exhaustiva de información obtenida a partir de investigaciones, la cual fue reunida antes y desde la introducción de los cultivos GM protegidos contra insectos. Se han investigado muchos factores importantes, tales como la biología de la plaga, la interacción entre la plaga y el cultivo, así como la genética de la resistencia. Los modelos de simulación por computadora han permitido a los investigadores evaluar la efectividad relativa de diferentes opciones de manejo de la resistencia. Sin embargo, desde el inicio se comprendió que la ciencia por sí sola no dará como resultado un plan de MRI robusto si no se tiene en cuenta la experiencia práctica a campo, la información sobre el ambiente local y las prácticas de los productores.

Los planes de manejo de la resistencia deben adecuarse a cada situación productiva. Si bien se ha acumulado experiencia práctica con cultivos GM protegidos contra insectos en los EE.UU., Canadá, Australia, Argentina, Filipinas, Sudáfrica, España y China (Fit, 2003; Wu y Guo, 2005; Matten, *et al.*, 2008), la cual puede suministrar información acerca de ciertos elementos de los planes de MRI, se deben considerar otros aspectos, como los espectros únicos de poblaciones de la plaga y las prácticas agrícolas distintivas encontradas en los ambientes productivos locales. Por ejemplo, lo que funciona para los grandes sistemas de producción de monocultivos en América del Norte es poco probable que sea apropiado para la pequeña agricultura diversificada de África o el sudeste asiático.

Las incertidumbres, como las inherentes a los procesos biológicos y a los cambios en los ambientes agrícolas, pueden resultar en regulaciones demasiado conservadoras a la hora de establecer las medidas para el MRI, limitando en forma innecesaria el uso y la disponibilidad de la tecnología. Contrariamente, existe una

tendencia natural por parte de los agricultores a ser menos precavidos, impulsados por las necesidades a corto plazo de producir un cultivo de modo económicamente eficiente. El MRI práctico necesita alcanzar un equilibrio entre estas perspectivas contrarias. El objetivo debería ser permitir que los productores tengan acceso a la tecnología, proporcionando a la vez una gestión responsable y efectiva que otorgue un manejo aceptable de la resistencia.

Es necesario considerar un espectro de factores cuando se desarrolla un plan de MRI para los cultivos y áreas productivas específicas.

3.1. BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE LAS PLAGAS PRINCIPALES

El factor central de un plan de MRI se basa en la biología de las plagas blanco principales y en la interacción plaga-cultivo. Los planes de MRI desarrollados para diferentes países o regiones deben adaptarse a las necesidades locales específicas, y si bien deberían considerarse todos los elementos expuestos en este manual, algunos pueden no ser apropiados o factibles a nivel local.

La mayoría de los cultivos tienen un complejo de plagas primarias y secundarias. Muchas plagas secundarias pueden ser controladas por medio de otras herramientas de manejo integrado de plagas (MIP) si la plaga primaria es controlada a través de la característica biotecnológica. Se deberían identificar las plagas blanco primarias del cultivo protegido contra insectos para cada región y caracterizar la eficacia del cultivo GM para cada una de ellas. La información sobre la biología de la plaga blanco debería incluir el historial de medidas de control, tales como las clases de insecticidas aplicados en el área y la combinación de enfoques de MIP adoptados, para evaluar el potencial de desarrollo de resistencia.

Con ayuda de los entomólogos y fitopatólogos locales se debería investigar el ciclo de vida del insecto, incluyendo el número de generaciones de la plaga en las diferentes estaciones y regiones productivas, la migración anual y el

Los planes de manejo de la resistencia deben adecuarse a cada situación productiva

Desde el inicio se comprendió que la ciencia por sí sola no dará como resultado un plan de MRI robusto si no se tiene en cuenta la experiencia práctica a campo, la información sobre el ambiente local y las prácticas de los productores.

Tabla 1: Ejemplos de insectos plaga generalistas y especializados.

(adaptado a partir de Bernays y Minkenberg, 1997).

Plagas generalistas*	Plantas de las que se alimentan
Gusano bellotero/gusano cogollero del algodón; gusano elotero o isoca de la espiga en maíz (<i>Helicoverpa zea</i>)	Amplia variedad de especies cultivadas y no cultivadas
Gusano cogollero, oruga de la col, oruga del tabaco, oruga del Viejo Mundo (<i>Helicoverpa armigera</i>)	
Gusano cogollero del tabaco, <i>Heliothis virescens</i>	
Gusano falso medidor/gusano medidor de la polilla (<i>Trichoplusia ni</i>)	
Plagas especializadas	
Barrenador europeo del tallo del maíz, <i>Ostrinia nubilalis</i>	Principalmente maíz
Gusano de la raíz del maíz/Diabrotica, <i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	

*N.T.: debido a que las plagas reciben distintas denominaciones comunes según el área geográfica y el cultivo, se listan solo algunos de estos nombres, a modo de ejemplo.

movimiento de larvas y adultos de cada insecto blanco sobre el cultivo y otras plantas hospedadoras. Se debe comprender la localización, el momento y la distribución del daño por herbivoría sobre el cultivo. Si el *refugio* es un aspecto del plan de MRI, el movimiento de los insectos tiene un impacto directo sobre el diseño del refugio para producir insectos susceptibles.

Para las plagas polífitas (que se alimentan de muchas especies vegetales diferentes), los hospedadores alternativos adecuados (otros cultivos, malezas y vegetación natural, o una combinación de ellas) pueden considerarse como refugio siempre y cuando sirvan para producir suficientes insectos susceptibles en el mismo momento y en la misma área en que crece el cultivo Bt³. Esta situación se conoce comúnmente como “refugio natural” y puede ser la situación preponderante para ciertas plagas en determinadas áreas, de modo tal que su uso como refugio mantiene el riesgo de resistencia en un nivel aceptable. Algunos ejemplos de insectos plaga generalistas y especializados se muestran en la Tabla 1.

3.2. ESTRATEGIAS PARA LA UTILIZACIÓN DEL PRODUCTO

La caracterización del cultivo protegido contra insectos en lo que se refiere al plan de MRI debería incluir la eficacia de la característica para proteger el cultivo y controlar los insectos plaga en diferentes partes de la planta a lo largo del ciclo de crecimiento del cultivo.

Esta caracterización ayudará a identificar posibles deficiencias donde podrían ser necesarias medidas de control adicionales. Por ejemplo, bajo fuerte presión del insecto, no es inusual que ciertos tipos de cultivos Bt requieran aplicaciones suplementarias de insecticidas para proteger el rendimiento. Se espera que dichas aplicaciones reduzcan la presión de selección de resistencia al cultivo.

Una combinación de característica “alta dosis”–insecto significa que la característica es suficientemente eficaz y que el insecto blanco es suficientemente susceptible a la característica, y que muy pocos insectos expuestos, si es que alguno, sobreviven. En esta situación, puede ser apropiado el enfoque “alta dosis/refugio”, por el cual se provee un pequeño refugio que consiste en el cultivo hospedador que no contiene la característica de control de insectos, permitiendo así la producción de grandes números de insectos susceptibles. Estos insectos susceptibles quedan disponibles para aparearse con

El objetivo debería ser permitir que los productores tengan acceso a la tecnología, proporcionando a la vez una gestión responsable y efectiva que otorgue un manejo aceptable de la resistencia.

³ N.T.: En este manual, y para simplificar la lectura, se empleará el término “cultivo Bt” como equivalente a “cultivo protegido contra insectos”, dado que en la actualidad todos los eventos comerciales para el control de insectos contienen genes provenientes de *Bacillus thuringiensis* (Bt), aunque en el futuro se podrían emplear genes de otras fuentes.

3. Desarrollo de un plan de MRI robusto

cualquier insecto resistente que sobreviva en el cultivo Bt, y heredarán la susceptibilidad a la descendencia. En algunos casos, el refugio puede ser provisto por medio de una mezcla de semillas de la variedad GM y de la variedad no GM, y en otros (la estrategia más frecuente), el refugio debería plantarse en forma separada, como un bloque o franja dentro del campo GM o en un lote adyacente.

La estrategia alta-dosis/refugio no siempre es aplicable, ya que se basa en la alta sensibilidad de la población de la plaga al cultivo Bt y en que la infraestructura del área de siembra permita manejar refugios estructurados. En muchas situaciones, las plagas blanco pueden no ser altamente susceptibles. En estos casos, si bien el refugio ayuda a reducir la presión de selección de la resistencia, se deben tener en cuenta otras consideraciones:

- La disponibilidad de plantas hospedadoras alternativas (incluyendo variedades del mismo cultivo que no contienen la característica de protección contra insectos) que proporcionan un refugio natural;
- La dispersión a gran distancia de la población de insectos a través de diferentes regiones productivas, y
- El uso de medidas de control suplementarias que otorguen un manejo adicional de las plagas.

Hay múltiples técnicas para reducir la presión de selección de los insectos, incorporando métodos basados en el MIP donde es posible. Éstas incluyen, pero no se limitan a:

- El uso del refugio;
- La inspección del lote y aplicación de insecticidas acorde a las necesidades;
- La rotación de diferentes modos de acción;
- Restringir el uso de una única proteína insecticida en múltiples cultivos que forman un complejo de refugio natural; o limitar el uso de múltiples cultivos con las mismas proteínas de control de insectos;
- Fijar un tope de ventas para limitar la penetración en el mercado;

- La destrucción del rastrojo;
- Usar variedades del cultivo localmente adaptadas con resistencia endógena; y
- Combinar dentro de una planta múltiples característica que tengan como blanco las mismas plagas.

El mejor plan de MRI deberá combinar los productos disponibles con el ambiente local y las condiciones de presión de la plaga en un contexto de MIP.

El nivel ideal de expresión de las proteínas insecticidas en los cultivos protegidos contra insectos otorga:

- Un control adecuado de la(s) plaga(s) blanco por debajo del umbral de daño económico;
- Una expresión consistente a lo largo de todo el ciclo de desarrollo del cultivo para asegurar el control a medida que las poblaciones de la plaga aumentan; y
- Control de insectos parcialmente resistentes.

El nivel de control de las plagas blanco determinará la cantidad de refugio con plantas no protegidas contra insectos necesaria para sustentar suficientes poblaciones susceptibles. En algunos casos, el

refugio es un refugio estructurado; es decir, un área del mismo cultivo no protegido contra insectos, que coincide en grupo de maduración y fondo (*background*) genético con el cultivo protegido contra insectos, y sembrado cercanamente. El refugio también puede ser no estructurado, es decir, formado por plantas hospedadoras alternativas (otros cultivos, vegetación natural y malezas, o una combinación de éstas), siempre y cuando sirvan para producir suficientes insectos susceptibles.

La práctica de conservar una porción de la cosecha para sembrarla en la siguiente campaña puede tener impactos negativos importantes en el MRI

La alternancia de los cultivos protegidos contra insectos con diferentes modos de acción puede ser utilizada como parte de una estrategia de manejo de la resistencia para evitar que las plagas parcialmente resistentes puedan sobrevivir de una campaña a la siguiente. Para usar esta estrategia, los productores deben alternar la siembra de dos cultivos protegidos contra insectos con diferentes modos de acción (ver la sección siguiente).

3.2.1. Características insecticidas apiladas versus individuales

Las proteínas Bt para el control de insectos actúan por un mecanismo mediado por un receptor. Se ha identificado que el mecanismo de resistencia frecuentemente asociado a altos niveles de resistencia al insecticida Bt es un cambio en el receptor (Van Rie *et al.*, 1990; Ferré *et al.*, 1991; Tabashnik, *et al.*, 1996). El apilamiento de diferentes proteínas insecticidas en la misma planta controla no solo un mayor espectro de insectos, sino que también puede otorgar mejores propiedades en el MRI si las proteínas insecticidas actúan por un mecanismo de acción propio y diferente sobre la misma plaga blanco. Esta estrategia de MRI mejorada (conocida como “apilamiento” de genes o *pyramiding* en inglés) se basa en el concepto de que es mucho menos probable que se desarrolle la resistencia a dos proteínas insecticidas en la misma planta que la resistencia a una única proteína insecticida (Roush, 1994; Roush, 1997; Gould, 1988). La disminución en la probabilidad de desarrollo de la resistencia se basa en la muy baja probabilidad de que ocurran dos mutaciones al azar en un único insecto plaga en una generación. Los insectos portadores de una mutación que confiere resistencia a una de las proteínas son aún controlados por la segunda proteína insecticida.

Es útil conocer el potencial de patrones de resistencia cruzada entre las proteínas. Las proteínas insecticidas, que se unen a diferentes receptores en el intestino medio del insecto, tales como las proteínas

Bt Cry1 y Cry2 en el gusano cogollero del tabaco (*Heliothis virescens*), son ejemplos de dicha estrategia.

En los casos en que el apilamiento de características de control de insectos consiste en el uso simultáneo de dos agentes insecticidas con diferentes modos de acción contra las mismas plagas blanco, estas estrategias pueden ser usadas para reducir el desarrollo de resistencia de los insectos. Al usar este enfoque, es útil conocer el potencial de resistencia cruzada entre las distintas proteínas, y es necesario que los proveedores de semillas con características apiladas se aseguren que los requisitos para el MRI estén claramente explicitados. En la Tabla 2 se indican las proteínas insecticidas presentes en los eventos de maíz disponibles en 2011 en los EE.UU.

Los investigadores han resaltado las ventajas de apilar proteínas insecticidas en el mismo cultivo, indicando que el tamaño del refugio podría disminuirse considerablemente o que un refugio natural podría ser suficiente sin incrementar el riesgo de resistencia de los insectos (Roush, 1997; Zhao *et al.*, 2005). Esto se ha implementado en los EE.UU. para el algodón con características insecticidas apiladas (US-EPA, 2001) y en Sudáfrica para pequeñas producciones de algodón. Es importante señalar que en los casos en los que los genes apilados tienen como blanco diferentes plagas no hay ventaja para el MRI y son necesarios todos los requisitos del refugio completo.

3. Desarrollo de un plan de MRI robusto

Tabla 2. Características disponibles en maíz en los EE.UU., sus espectros de control, cantidad y distancias del refugio, en la región centro-oeste (abril de 2011).

(Adaptado de: DiFonzo y Cullen, Programa de Entomología de cultivos a campo de MSU, CDD #288)

Nombre comercial	Proteína(s) Bt	Insectos controlados total (en negrita) o parcialmente (<i>itálicas</i>)		Tolerancia a herbicidas	% y distancia del refugio en el centro-oeste
		Por encima del suelo	Del suelo		
Productos Agrisure					
Agrisure CB/LL	Cry1Ab	BEM <i>IM SF BT</i>	–	LL	20% – 800 m
Agrisure GT/CB/LL	Cry1Ab	BEM <i>IM SF BT</i>	–	TG LL	20% – 800 m
Agrisure RW	mCry3A	–	GRM	–	20% – adyacente
Agrisure GT/RW	mCry3A	–	GRM	TG	20% – adyacente
Agrisure CB/LL/RW	Cry1Ab mCry3A	BEM <i>IM SF BT</i>	–	LL	20% – adyacente
Agrisure 3000GT	Cry1Ab mCry3A	BEM <i>IM SF BT</i>	–	TG LL	20% – adyacente
Agrisure Viptera 3110	Cry1Ab Vip3A	COC IM BEM SF BT	–	TG LL	20% – 800 m
Agrisure Viptera 3111	Cry1Ab mCry3A Vip3A	COC IM BEM SF BT	GRM	TG LL	20% – adyacente
Agrisure Viptera 3220	Cry1Ab Cry1F Vip3A	COC IM BEM SF BT	–	TG LL	5% – 800 m
Productos Herculex					
Herculex 1 (HX1)	Cry1F	COC BEM SF <i>IM</i>	–	LL RR2*	20% – 800 m
Herculex RW (HXRW)	Cry34/35Ab1	–	GRM	LL	20% – adyacente
Herculex XTRA (HXX)	Cry1F Cry34/35Ab1	COC BEM SF <i>IM</i>	GRM	LL RR2*	20% – adyacente
Productos Optimum					
Optimum Intrasect	Cry1F Cry1Ab	COC BEM SF <i>IM</i>	–	LL RR2	5% – 800 m
Optimum AcreMaxRW	Cry34/35Ab1	–	GRM	RR2	10% en la bolsa
Optimum AcreMax1 (AM1)	Cry1F Cry34/35Ab1	COC BEM SF <i>IM</i>	GRM	LL RR2	10% en la bolsa (GRM) y 20% – 800 m (BEM)
Productos YieldGard					
YGCB	Cry1Ab	BEM <i>IM SF BT</i>	–	RR2*	20% – 800 m
YGRW	Cry3Bb1	–	GRM	RR2*	20% – adyacente
YieldGard Plus	Cry1Ab Cry3Bb1	BEM <i>IM SF BT</i>	GRM	RR2*	20% – adyacente
YieldGard VTRW	Cry3Bb1	–	GRM	RR2	20% – adyacente
YieldGard VT Triple	Cry1Ab Cry3Bb1	BEM <i>IM SF BT</i>	GRM	RR2	20% – adyacente
Productos Genuity/SmartStax					
Genuity VT Double Pro (VT2P)	Cry1A.105 Cry2Ab2	IM BEM SF	–	RR2	5% – 800 m
Genuity VT Triple Pro (VT3P)	Cry1A.105 Cry2Ab2 Cry3Bb1	IM BEM SF	GRM	RR2	20% – adyacente
SmartStax (Dow) or Genuity Smartstax (Monsanto) (SSX)	Cry1A.105 Cry2Ab2 Cry1F Cry3Bb1 Cry34/35Ab1	COC IM BEM SF	GRM	LL RR2	5% – adyacente
Genuity SSX RIB Complete (Mon)	Igual a SSX	Igual a SSX		LL RR2	Para 2012 5% en la bolsa
REFUGE ADVANCED Powered by SSX (Dow)	Igual a SSX	Igual a SSX		LL RR2	Para 2012 5% en la bolsa

COC complejo de orugas cortadoras constituido por el gusano cortador negro o grasiento (*Agrotis ipsilon*, en inglés black cutworm) y el gusano cortador occidental del frijol (*Richia albicosta*, en inglés *western bean cutworm*); **IM** isoca del maíz (*Helicoverpa zea*); **GRM** (o RW) gusano de la raíz del maíz, *Diabrotica* spp.; **BEM** (o CB) barrenador europeo del maíz (*Ostrinia nubilalis*); **SF** *Spodoptera frugiperda* (gusano militar tardío o gusano cogollero); **BT** barrenador del tallo (*Papaipema nebris*, *stalk borer*); **TG** (o GT) tolerante a glifosato; **LL** Liberty Link, tolerante a glufosinato; **RR2** Roundup Ready 2, tolerante a glifosato.

* Algunos eventos con estas proteínas Bt también contienen estos genes para la tolerancia a herbicida.

3.2.2. Sistemas de cultivo locales

Los sistemas de producción agrícola varían según los cultivos, los países y las culturas. La agricultura de alta producción puede favorecer los monocultivos a lo largo de grandes superficies con pocas áreas silvestres o no cultivadas. Otros ambientes pueden sustentar una gran diversidad de cultivos en pequeños lotes, o la mezcla de cultivos con vegetación silvestre dentro del mismo terreno. El riesgo de desarrollo de resistencia es afectado por estos patrones, con un incremento en el riesgo frecuentemente asociado a los sistemas de monocultivo y mayor penetración de mercado.

La práctica de conservar una porción de la cosecha para sembrarla en la siguiente campaña puede tener impactos negativos importantes en el MRI. Esta práctica socavaría los esfuerzos del MRI al:

- Crear una mezcla de plantas con diferentes genotipos, incluyendo plantas sin los genes de protección contra insectos;
- Eliminar los esfuerzos de los controles/aseguramiento de la calidad (CC/AC) en la producción de semillas, dando como resultado la expresión variable de la característica;
- Limitar la exactitud de las evaluaciones de penetración de mercado, si las semillas conservadas no se registran al ser sembradas;
- Debilitar los planes de monitoreo de los insectos al sortear la toma de registro de los volúmenes y áreas donde se cultivan variedades específicas;
- Impedir los esfuerzos efectivos de educación y comunicación al productor.
- Separar las características apiladas que fueron combinadas durante el proceso de producción de la semilla.

Sin los debidos CC/AC por parte de las compañías semilleras, la alta dosis uniforme de la característica y su pureza pueden verse comprometidas. Si las cifras de penetración de mercado son inexactas, los desencadenantes y topes de mercado se tornan imprácticos y el monitoreo de la susceptibilidad de los insectos se verá obstaculizado dado que no todos los sitios de muestreo disponibles están identificados. Con el objetivo de compartir información educativa clave, quienes proveen, distribuyen y comercializan la tecnología deben ser capaces de identificar a los productores que se beneficiarán con esta información.

3.2.3. Opciones de siembra

En algunos casos, el cultivo solo puede ser sembrado durante ciertos momentos del año, mientras que la población de plagas persiste a lo largo del año, sobreviviendo en otros hospedadores. Esto puede crear un refugio temporal donde la selección hacia la resistencia se relaja, y los insectos resistentes pueden estar en desventaja. En otros casos, puede haber producción del cultivo a lo largo del año, quizás con siembras secuenciales, en cuyo caso la presión de selección para la resistencia puede ser continua.

El ajuste geográfico de un cultivo particular protegido contra insectos puede ser limitado, quizás siendo solo preferido en áreas donde la presión de las plagas es repetidamente alta; en otras áreas las poblaciones de las plagas pueden permanecer a bajos niveles. Tal situación reduciría la presión de selección hacia la resistencia a lo largo de la población.

La alternancia de cultivos protegidos contra insectos con diferentes modos de acción puede usarse como parte de una estrategia de MRI para impedir la supervivencia de plagas parcialmente resistentes que puedan sobrevivir de una campaña a la otra. Para usar esta estrategia, los productores deben alternar la siembra de dos cultivos protegidos contra insectos con diferentes modos de acción.

La disponibilidad de características insecticidas diferentes en el mismo cultivo contra la misma plaga también puede reducir la presión de selección. Si se dispone de diferentes características en un cultivo o en el mercado, la presión de selección de resistencia hacia cualquiera de ellas se reduce en comparación con la situación donde domina una única característica en el mercado. El último caso es la situación bajo la cual se desarrollaron los primeros planes de MRI en América del Norte, ya que en ese momento solo se disponía de la proteína Cry1Ab para controlar el barrenador europeo en el maíz (*Ostrinia nubilalis*) y de la proteína Cry1Ac para el control del gusano cogollero en el algodón.

Monitorear la tasa de adopción de los cultivos protegidos contra insectos con una frecuencia regular es importante para identificar las áreas de mayor riesgo. Conocer la penetración de mercado junto con los desencadenantes de mercado regionales proporciona herramientas de manejo del riesgo útiles para la utilización del refugio y el monitoreo de la susceptibilidad de los insectos.

Sin los debidos CC/AC por parte de las compañías semilleras, la alta dosis uniforme de la característica y su pureza pueden verse comprometidas

3. Desarrollo de un plan de MRI robusto

3.2.4. Opciones alternativas para el manejo de plagas

Solo raras veces los cultivos GM protegidos contra insectos representarán la única opción para controlar una población de plagas. Normalmente, el daño causado a los cultivos por los insectos se maneja usando una combinación de herramientas, tales como el manejo de las fechas de siembra para evitar los picos poblacionales de las plagas en los momentos en que el cultivo es más vulnerable. Usar la tolerancia endógena o variedades de cultivos resistentes puede limitar el impacto de las poblaciones de plagas. La rotación de cultivos es una herramienta muy efectiva contra las plagas relativamente sedentarias. Frecuentemente se dispone de insecticidas sintéticos o biológicos para reducir las poblaciones por debajo de los umbrales de daño económico. También pueden estar disponibles otras características biotecnológicas. El uso de todas estas alternativas implica que la presión de selección de resistencia hacia la característica biotecnológica introducida puede ser mucho menor que lo anticipado. Del mismo modo, la disponibilidad de estas herramientas implica que las poblaciones de la plaga que están evolucionando hacia la resistencia pueden aún ser controladas, de modo que el impacto de la resistencia sobre la producción del cultivo puede también ser menor de lo que se anticipaba.

Cuando los niveles de presión de la plaga requieren de medidas de control adicionales, los productores deberían consultar los lineamientos locales y elegir una opción de control, o combinación de tratamientos, que causen el menor impacto sobre los organismos benéficos.

Cuando los niveles de presión de la plaga requieren de medidas de control adicionales, los productores deberían consultar los lineamientos locales y elegir una opción de control, o combinación de tratamientos, que causen el menor impacto sobre los organismos benéficos. Los organismos benéficos son componentes importantes en el MIP y deberían ser protegidos lo máximo posible.

Cuando optan por medidas de control químico, los productores deberían seguir los requisitos que figuran en el marbete del producto elegido y los lineamientos para el cultivo Bt. Es importante resaltar que no se deben usar insecticidas que contengan Bt en los lotes que contienen plantas GM protegidas contra insectos con mecanismos de control Bt en su genoma. Algunos refugios no pueden ser tratados con productos de control químicos en ciertos estadios de desarrollo del organismo blanco. Por ejemplo, en algunas áreas de producción de los EE.UU., los insecticidas etiquetados para el control de plagas en estado adulto no deben usarse en el refugio durante el estadio de emergencia de los adultos.

En algunos casos, el cultivo puede tener incorporado un mecanismo de control de malezas no presente en el refugio, o viceversa. El productor necesita seleccionar los mecanismos de control de malezas apropiados para el cultivo y el refugio en función de la genética de las variedades.



4. Herramientas para el manejo de la resistencia de insectos

Hay múltiples técnicas que pueden reducir la presión de selección de resistencia sobre las poblaciones de insectos plaga. El mejor plan de MRI combinará los productos disponibles con las condiciones ambientales y de producción locales en forma integrada.

4.1 Refugios estructurados

Los refugios contienen plantas del mismo cultivo sin la característica biotecnológica de protección contra los insectos blanco y proveen un área donde los insectos susceptibles pueden desarrollarse. Esta área sirve para diluir la presión de selección hacia la resistencia. En el caso de características en “alta dosis”, los insectos susceptibles producidos en el área refugio sirven también para aparearse con cualquier posible insecto resistente que sobreviva en el área del cultivo Bt. Esto impide que la progenie herede la resistencia a la proteína insecticida.

El tamaño del área del refugio estructurado debe tener en cuenta los factores que afectan la presión de selección hacia la resistencia mencionadas anteriormente, además de la aceptación de los productores. Las áreas refugio normalmente rinden menos que la contraparte biotecnológica porque deben permitir cierto nivel de daño por los insectos para producir insectos susceptibles. El valor del cultivo y el nivel de industrialización del sistema agrícola (versus agricultura de subsistencia) deben ser considerados cuando se determina el tamaño apropiado del refugio.

En muchos casos, lo más deseable es que el refugio se siembre como un bloque separado, o en un lote separado del cultivo Bt. Este aislamiento impide que los insectos prueben una planta protegida contra insectos y luego vayan a una no protegida, recibiendo una dosis insecticida menor a la completa. Si los insectos se desplazan desde el cultivo protegido hacia las plantas del refugio o viceversa, se puede reducir el tamaño efectivo del refugio y favorecer la supervivencia de los insectos parcialmente resistentes. Con un refugio separado, el productor es responsable de asegurar que el refugio se siembre al costado del cultivo Bt. Dicho refugio separado puede ser provisto entregando una pequeña bolsa de semillas para el refugio junto con el mayor volumen de las bolsas de las semillas Bt, o alentando a que el productor compre las semillas del refugio en forma separada. En otros casos, puede ser más apropiado que el refugio sea provisto como una mezcla de semillas. Esto simplifica las operaciones del productor y cambia las responsabilidades del cumplimiento con los

requisitos del refugio hacia el proveedor de las semillas. En los casos donde el movimiento de los insectos entre las plantas es limitado, o donde el movimiento no favorece la supervivencia de los insectos parcialmente resistentes, las mezclas de semillas pueden ser altamente efectivas.

4.2 Inspección del lote y aplicación de insecticidas según las necesidades

Ningún cultivo GM protegido contra insectos debe ser considerado como una solución completa a todos los problemas de plagas. Cualquier característica es solo eficaz contra un subgrupo de especies plaga, y el nivel de control de las especies blanco es frecuentemente imperfecto. Esto significa que los productores de variedades de cultivos protegidos contra insectos deben seguir inspeccionando sus lotes para detectar poblaciones de insectos dañinos y usar insecticidas cuando se alcanza el umbral de daño económico. Las aplicaciones de insecticidas contra las poblaciones de plagas blanco ayudarán a controlar cualquier porción de la población que pueda estar desarrollando resistencia a la proteína insecticida del cultivo Bt.

4.3 Limitar el uso de múltiples cultivos con las mismas proteínas insecticidas

En aquellas situaciones donde se considera que un refugio natural es un factor importante para reducir la presión de selección hacia la resistencia, y donde una gran proporción del refugio natural es también un cultivo agrícola, puede ser útil limitar el uso de la misma proteína insecticida o similar en el cultivo del refugio natural. Esto podría lograrse limitando las áreas en las cuales se cultiven las variedades protegidas contra insectos del segundo cultivo, o solicitando el uso de un refugio estructurado para el cultivo refugio. Esto requerirá una planificación que incluya un análisis económico y social para balancear los beneficios relativos de usar las características de protección contra insectos en los diferentes cultivos. Por ejemplo, en los Estados Unidos se conoce que los cultivos hospedadores de *Helicoverpa zea*, tales como el maíz y la soja, representan componentes importantes del refugio natural para el algodón protegido contra insectos. En la actualidad no se usan comercialmente características de protección contra insectos en soja, y los híbridos de maíz Bt requieren un refugio estructurado. Por lo tanto, tanto la soja como el maíz convencional actúan como refugio para el algodón protegido contra insectos.

4. Herramientas para el manejo de la resistencia de insectos

4.4 Fijar un tope de ventas para limitar la penetración en el mercado

A medida que la adopción de características insecticidas en el mercado aumenta, también lo hace la presión de selección de resistencia. Una herramienta para limitar la presión de selección es fijar un tope en algún nivel para las ventas de variedades protegidas contra insectos. Monitorear la tasa de adopción de los cultivos Bt en forma regular es importante para identificar las áreas de mayor riesgo y la información del monitoreo puede ser utilizada para activar el uso del refugio y el monitoreo de la susceptibilidad de los insectos blanco. Por ejemplo, en las Filipinas, cuando se alcanza un nivel específico de penetración en el mercado (80%), todos los cultivos de maíz protegidos contra insectos con un solo gen deben utilizar un refugio estructurado. Hasta ese entonces, la presencia de plantas hospedadoras no protegidas contra insectos puede servir como refugio.

Los topes específicos de mercado pueden limitar la siembra de cultivos protegidos contra insectos o favorecer proteínas insecticidas en un cultivo pero no en otro como método de reducir la presión de selección. Los topes se pueden aplicar en regiones geográficas específicas. Sin embargo, la decisión de implementar dichos topes y los límites impuestos a la siembra deberán tener en consideración las implicancias sociales y económicas de restringir la disponibilidad de una herramienta benéfica de control de insectos. También puede resultar logísticamente complejo hacer cumplir el tope. Por ejemplo, se introdujo un tope de mercado del 30% para el primer algodón protegido contra insectos cultivado en Australia, que contenía una sola proteína Cry. Además, se requirió que los productores:

- Plantearan el refugio;
- Evitaran la siembra tardía para disminuir la presión de la plaga;
- Destruyeran las pupas en el rastrojo;
- Trabajaran dentro de los umbrales de aplicaciones definidos; y
- Monitorearan la resistencia a la proteína Cry en las poblaciones de polillas (Davidson, 2003).

La posterior introducción del algodón protegido contra insectos con dos genes insecticidas diferentes para las plagas blanco ayudó a reducir estos requisitos de MRI.

4.5 Siembra y destrucción de los rastrojos

Para los insectos que invernan en el suelo, la labranza puede reducir la supervivencia de cualquier insecto resistente al exponerlos a las condiciones ambientales adversas, llevándolos a la mortalidad a través de procesos naturales tales como la disecación, el congelamiento o el sobrecalentamiento. La “rotura de las pupas” con la siembra es un componente central del programa de MRI en el algodón protegido contra insectos en Australia.

Para los insectos que invernan dentro del rastrojo, tales como los barrenadores del maíz que realizan diapausa como larvas dentro de las galerías en la base del tallo del maíz, la destrucción de los residuos luego de la cosecha eliminará un gran número de estos insectos. Esta acción sirve para reducir la presencia de la plaga en la campaña siguiente. La destrucción de los rastrojos puede ser también efectiva para los insectos que se alimentan dentro de la porción cosechada del cultivo, como los frutos de productos frescos y los tubérculos de papa. En algunos casos, cosechar el cultivo protegido contra insectos antes de que los insectos completen su desarrollo reducirá la supervivencia general de cualquier insecto resistente, mientras que la eliminación y destrucción del material cosechado infectado reducirá la tasa de incidencia de la plaga.

4.6 Resistencia endógena y buenas prácticas de manejo del cultivo

Por diversas razones, los cultivos sanos localmente adaptados proveen ventajas en el manejo de la resistencia. Las variedades localmente adaptadas frecuentemente poseen resistencia endógena a insectos o características de tolerancia, que han evolucionado o han sido desarrollados para tolerar cierto grado de presión de plagas. Los cultivos sanos, producidos con buenas prácticas de manejo del cultivo, producirán los niveles esperados de las proteínas insecticidas, asegurando que la dosis y eficacia coincidan con el plan de MRI. Un refugio correcto producirá más insectos susceptibles y mejor rendimiento que las variedades inferiores o los cultivos mal manejados.

4.7 Uso de múltiples características contra la misma plaga blanco

Al igual que con cualquier otra tecnología de control de plagas, la dependencia desmedida de un único modo de acción puede llevar rápidamente al desarrollo de la resistencia. Como se explicó anteriormente, apilar características insecticidas que otorgan altos niveles de protección contra especies de plagas específicas es más robusto que el uso de características individuales. Una estrategia de

apilamiento de genes para características de control de insectos consiste en el uso simultáneo de dos (o más) agentes insecticidas con diferentes modos de acción. Al usar este enfoque, es útil conocer el potencial de patrones de resistencia cruzada entre las proteínas. Las proteínas insecticidas que se unen a diferentes receptores en el intestino medio del insecto, tales como las proteínas Bt Cry1 y Cry2 contra el gusano cogollero del tabaco (*Heliothis virescens*), son ejemplos de dicha estrategia. El apilamiento de proteínas insecticidas ha reducido los requisitos del refugio en los EE.UU. para el algodón (US-EPA, 2001) y el maíz (Tabla 2).

Adicionalmente al apilamiento de genes, se pueden usar múltiples genes en una aplicación en mosaico, donde se siembra en el área de producción un diseño de distintos bloques de cultivos con diferentes características insecticidas. Este mosaico reducirá la

presión de selección de resistencia contra cualquiera de las proteínas de control, y ayuda a preservar la durabilidad de la tecnología. Por lo tanto, puede ser importante que se estimule el desarrollo e introducción de nuevas características como parte de un programa de MRI.

En los EE.UU. las primeras variedades de maíz y algodón protegidos contra insectos producían solo las proteínas Cry1Ab o Cry1Ac (estrechamente relacionadas), respectivamente, para la protección contra los barrenadores del maíz y otros insectos lepidópteros plaga. Sin embargo, en años posteriores se introdujeron nuevas características de protección contra lepidópteros, tales como Cry1F, Cry2Ab, Cry1A.105 y Vip3A, que agregan diversidad a los modos de acción con los que se encuentra la plaga blanco, y ayudan a extender la vida útil de estos cultivos.

5. Línea base de susceptibilidad y monitoreo del daño

El monitoreo de la resistencia incluye dos enfoques básicos: monitorear los insectos para detectar cambios en la susceptibilidad a la proteína de control y monitorear los lotes para detectar niveles no aceptables de daño debidos a la plaga blanco.

El monitoreo rutinario de insectos puede aportar información importante acerca de la efectividad de los programas de MRI y detectar cambios en la susceptibilidad de la plaga antes de que la resistencia se disperse a nivel de campo. Esto permite implementar las acciones necesarias para mitigar el daño al cultivo y manejar las poblaciones resistentes del insecto plaga. Se considera que las poblaciones del insecto blanco son resistentes cuando el daño sobrepasa los niveles que normalmente se esperan en función de la combinación característica-plaga. Cuando los focos de resistencia son locales o aislados es posible limitarlos con medidas de mitigación apropiadas. Una vez que la resistencia ocurre en forma dispersa, puede ser demasiado tarde para rescatar la eficacia del cultivo Bt en esa región. Sin embargo, si el cultivo sigue siendo eficaz contra otros insectos plaga primarios, la utilidad general de la característica de protección puede mantenerse.

Como primer paso, debería determinarse la línea base de susceptibilidad de las poblaciones de la plaga a la característica en las diferentes regiones en forma previa a la expansión de los cultivos Bt. El subsiguiente monitoreo periódico (por ej. anual o bianual, dependiendo de la plaga y del cultivo) tiene como finalidad comparar la susceptibilidad de los insectos con la información de la línea base. La colecta de insectos debería focalizarse en las regiones con el mayor riesgo previsto de desarrollo de resistencia, es decir, en áreas con altos niveles de penetración (adopción) de mercado y en aquellas áreas donde el tratamiento insecticida de cultivos no protegidos contra insectos es alto. El muestreo debería llevarse a cabo en áreas alejadas, pero no dentro del lote del cultivo protegido, con el fin de colectar un número suficiente de insectos para las evaluaciones y para asegurar que las muestras colectadas sean representativas de la población local de la plaga.

Para representar una localidad, es recomendable que se colecten al menos 100 larvas, 100 adultos, 50 hembras apareadas o 50 masas de huevos, pero si las poblaciones de campo son

pequeñas, la mitad de estas cantidades también

proporcionarán una muestra válida. Estas muestras se usan para establecer las poblaciones de insectos que se someterán a las evaluaciones, usando técnicas

estandarizadas de bioensayos, cuando sea

posible la cría en laboratorio. Se deberían

realizar los ensayos sobre la

generación de laboratorio más temprana posible (idealmente la primera generación de progenie si se colectaron larvas o adultos, o las larvas eclosionadas si se colectaron huevos). Los sistemas de prueba deberían ser adaptados a las especies y característica de interés, y usualmente consistir en las proteínas insecticidas purificadas colocadas sobre o incorporadas a la dieta artificial. Los puntos finales determinados para la evaluación pueden ser tales como la mortalidad, la inhibición del crecimiento o la inhibición de la muda. Los bioensayos pueden hacerse a una concentración determinada de proteína con una respuesta conocida en las poblaciones susceptibles (por ej., una concentración discriminante que mata o impide el desarrollo de al menos el 99% de los insectos susceptibles, Marçon *et al.*, 2000), o usando una curva de dosis-respuesta para estimar los parámetros tales como la DL50 (concentración necesaria para causar el 50% de mortalidad).

El monitoreo por parte de los productores para detectar el daño debido a las principales plagas blanco es probablemente el componente más importante del monitoreo de la resistencia. Es probable que los productores sean los primeros en identificar los cambios relevantes en el nivel de eficacia de la característica de protección contra insectos. Por lo tanto, la comunicación con los productores es crucial para que ellos puedan reportar cualquier hallazgo de daño en el cultivo protegido contra insectos a la compañía semillera o a los representantes de los proveedores de la tecnología. Se puede suministrar la información de contacto a los distribuidores, vendedores y productores de varias

El monitoreo de la resistencia incluye dos enfoques básicos: monitorear los insectos para detectar cambios en la susceptibilidad a la proteína de control y monitorear los lotes para detectar niveles no aceptables de daño debidos a la plaga blanco.

El monitoreo por parte de los productores para detectar el daño debido a las principales plagas blanco es probablemente el componente más importante del monitoreo de la resistencia.

maneras, por ejemplo, a través de guías para el usuario y etiquetas en los productos. Luego de informado el daño, se deberá contactar al productor para investigar la fuente del mismo.

Una vez que se haya verificado que el daño se produjo en un lote sembrado con el cultivo Bt y estuvo involucrada una plaga blanco clave, un representante técnico deberá visitar al productor para:

- Investigar el nivel de daño en el cultivo;
- Ayudar al productor a mitigar el problema para poder preservar el cultivo en esa campaña; y
- Reportar los resultados para un futuro seguimiento, si se justifica.

Si el seguimiento confirma que se podría tratar de un caso de resistencia, se deberán llevar a cabo investigaciones adicionales para determinar el nivel de sensibilidad a la proteína insecticida en comparación con las mediciones de la línea base. De ser necesario, se deberán iniciar acciones de remediación acordes con la severidad del incidente. Los protocolos para estas actividades generalmente están incluidos en los procedimientos operacionales estándares de las compañías y en las guías de gestión responsable del producto. Entre estas medidas se incluye el reporte a las autoridades regulatorias.



6. Manejo integrado de plagas

Cuando los niveles de presión de la plaga requieren medidas de control adicionales, los productores deberán consultar las guías locales de manejo integrado de plagas (MIP) y elegir una opción de control, o una combinación de tratamientos, que cause el menor impacto posible en los organismos benéficos. En este sentido, los organismos benéficos son componentes importantes en el MIP y deben ser protegidos lo máximo posible, y se sabe que los cultivos Bt son benignos para los artrópodos no blanco.

El uso del refugio en el MRI es una herramienta para la agricultura sostenible y el MIP, que incluye el uso apropiado de umbrales de plaga y muestreo para tomar decisiones informadas para un régimen de aplicaciones de control químico. Las prácticas culturales y biológicas de control de plagas también son compatibles con el MIP y son incentivadas de modo de mejorar el manejo de los cultivos GM. No obstante, los insecticidas Bt no deberían ser utilizados en los cultivos Bt o en los refugios correspondientes a estos cultivos.

Al seleccionar las medidas de control químico, los productores deberían seguir los requisitos expresados en el marbete (etiqueta) del producto elegido y los lineamientos para el cultivo Bt. Además de no usar productos insecticidas Bt en el refugio, es importante recordar que algunos refugios no pueden ser tratados con controles químicos en ciertas etapas de desarrollo del insecto plaga. Por ejemplo, en algunas áreas de los EE.UU., los insecticidas rotulados para el control de insectos adultos no deben ser utilizados en el

refugio durante la emergencia de los adultos. La reducción en el uso general de insecticidas puede incrementar el potencial de surgimiento de plagas secundarias y un enfoque de MIP puede ayudar a manejarlas.

Las infestaciones por plagas no controladas por la proteína insecticida incorporada en el cultivo GM son posibles en cualquier momento. En algunos casos, incluso, podrán surgir infestaciones por la plaga blanco por encima del umbral de daño económico, y los productores necesitarán aplicar medidas de control adicionales. Se fomenta que los productores usen las guías de MIP locales para identificar los esquemas apropiados de monitoreo, las pagas a ser monitoreadas, los umbrales de daño económico críticos y las medidas de control alternativas recomendadas. Existen listas de chequeo de MIP para asistir a los productores. Éstas incluyen acciones tales como:

Los insecticidas Bt no deberían ser utilizados en los cultivos Bt o en los refugios correspondientes a esos cultivos

- Seleccionar los cultivares apropiados para las áreas productivas;
- Usar medidas de control cultural para reducir la densidad de las plagas;
- Usar los programas de inspección y monitoreo recomendados; y,
- Cuando sea necesario, elegir las medidas de control adicionales que tengan el menor impacto posible sobre los organismos benéficos.

7. Compromiso, educación y comunicación

El manejo de la resistencia es responsabilidad de todas las partes interesadas. El uso de cultivos protegidos contra insectos otorga una nueva opción de control de insectos en el mercado. Aunque es claro que la disponibilidad de estos cultivos ofrece un valor considerable a los productores, también es claro que a todas las partes les interesa preservar la utilidad de las proteínas insecticidas por el beneficio a largo plazo que estas brindan (*Gianessi et al*, 2002). De hecho, el esfuerzo proactivo para educar al productor en el uso responsable de los cultivos Bt en los EE.UU., así como la velocidad de su adopción, han sido mayores que para cualquier otro producto insecticida en la historia (James, 2010).

La adopción de los planes de MRI para los cultivos Bt ha sido exitosa hasta la fecha en parte porque fueron desarrollados con la amplia participación de todos los actores involucrados. Las compañías proveedoras de la tecnología, las instituciones académicas, las autoridades regulatorias, los productores, las empresas semilleras y otras organizaciones locales y regionales han tenido todos su rol en el desarrollo y mantenimiento de las estrategias del MRI.

La educación al agricultor en relación con el uso apropiado de estos cultivos y sus correspondientes planes de MRI es un componente clave en la comercialización del producto. En línea con las buenas prácticas y la política de lanzamiento del producto, las compañías semilleras, los distribuidores y los productores deberían estar informados acerca del

El manejo de la resistencia es responsabilidad de todas las partes interesadas

Es importante que los productores sean entrenados en lugares que les resulten familiares y relevantes a su situación, teniendo en cuenta la cultura, el idioma, el nivel educativo, las rutas de acceso a la información y cómo se obtienen los productos.

uso correcto del producto, incluyendo las consecuencias del desarrollo de la resistencia. Por ejemplo, se podrían organizar encuentros de capacitación para quienes compren el producto. Otros mecanismos de educación podrían incluir boletines técnicos, folletos sobre el producto, encuentros de ventas, artículos en periódicos especializados, presentaciones a cargo de expertos locales, y guías que acompañen al producto comercial. Todos estos pueden ser implementados en forma adicional al

El manejo exitoso de la resistencia debe comenzar antes de la introducción de los cultivos Bt a través de:

- El establecimiento de una infraestructura local de expertos que puedan aportar conocimientos sobre la biología de las plagas blanco principales y las interacciones plagas-cultivo, que puedan ayudar a adaptar las recomendaciones de MRI a la medida de cada lugar;
- La evaluación de la información disponible a cargo de científicos expertos para determinar si se necesita alguna investigación adicional para la implementación de un plan inicial de MRI y para refinar el uso de la estrategia a medida que surjan nuevas experiencias e informaciones;
- Prácticas de producción específicas para el cultivo, provistas por los grupos de productores y organizaciones asesoras de productores; evaluación de cómo los componentes de un plan de MRI pueden ser implementados en la práctica, y cómo la información sobre el MRI puede ser divulgada con efectividad;
- Información técnica provista por los actores de la cadena productiva y los proveedores de la tecnología, para desarrollar materiales educativos destinados a los usuarios y demás interesados;

Si bien este es el enfoque ideal, debe notarse que no todas las situaciones se ajustarán a este modelo. Por ejemplo, puede no existir la infraestructura necesaria para educar al productor en el manejo de la resistencia de insectos a lo largo y a lo ancho del territorio. En estos casos, será necesario explorar otras opciones para su implementación.

7. Compromiso, educación y comunicación

etiquetado de la bolsa que acompaña el material de siembra del cultivo Bt y que resume el contenido del producto y las recomendaciones para su uso.

Es importante que los productores sean entrenados en lugares que les resulten familiares y relevantes a su situación, teniendo en cuenta la cultura, el idioma, el nivel educativo, las rutas de acceso a la información y cómo se obtienen los productos. Los planes de MRI complejos que requieran que los productores realicen tareas adicionales más allá de sus actividades habituales, podrían contrarrestar la gestión responsable; por lo tanto es mejor mantener tanto planes como mensajes simples y directos.

Los programas educativos para los productores deberían cubrir las siguientes áreas en relación al manejo de la resistencia:

- La descripción de la característica introducida y cómo ésta otorga la protección contra insectos;
- La eficacia esperada contra los insectos blanco primarios y secundarios;
- Los lineamientos para la siembra, manejo y cosecha para una productividad óptima, incluyendo la aplicación de fertilizantes, el manejo de malezas y otras técnicas de MIP;
- Los lineamientos sobre la inspección del lote para detectar el daño por los insectos blanco y los umbrales para la aplicación de insecticidas u otras herramientas de manejo de la plaga;
- Los lineamientos sobre cómo implementar los requisitos del refugio, si éste es aplicable;
- Las posibles consecuencias de no seguir las buenas prácticas de manejo del cultivo, incluyendo la pérdida en el potencial de rendimiento, el desarrollo de la resistencia y la pérdida de la tecnología;
- Las instrucciones para comunicarse con los asesores agrícolas y con los proveedores de semillas y/o tecnología si hubiera dudas sobre el comportamiento del cultivo o su manejo.



8. Ejemplos de planes de MRI

Estados Unidos. La introducción de los cultivos Bt en los EE.UU. le otorgó a los productores nuevas y poderosas herramientas de control, que son tan efectivas y seguras que la EPA, en una situación sin precedentes, solicitó planes de manejo de la resistencia en forma previa a la introducción de los productos en el mercado. Específicamente, estos planes de MRI tempranos se basaron en:

- La presencia de una alta dosis de la proteína insecticida en los tejidos vegetales;
- El uso de refugios con cultivos no Bt donde los insectos susceptibles pudieran sobrevivir; y
- El supuesto de que los genes de resistencia a las proteínas insecticidas inicialmente estarían solo en baja frecuencia en las poblaciones del insecto blanco.

Los primeros planes de MRI en los EE.UU. requirieron

un área de plantas no Bt (refugio) que estuviera próxima al cultivo protegido contra insectos de modo tal que los pocos insectos resistentes que emergieran del lote Bt pudieran fácilmente encontrarse y aparearse con insectos susceptibles. En este escenario, la genética de la resistencia se diluye para mantener la descendencia susceptible a la proteína de control expresada en el cultivo.

En teoría, esta estrategia de MRI debería retrasar el desarrollo de la resistencia siempre que el refugio produzca un número suficiente de insectos susceptibles de modo tal que el apareamiento entre los insectos resistentes y susceptibles ocurra con mayor probabilidad en comparación con el apareamiento entre dos insectos resistentes.

Los requisitos del refugio establecidos por la US-EPA para los cultivos protegidos contra insectos se describen en la Tabla 3, para el maíz y en la Tabla 4, para el algodón.

Tabla 3. Requisitos para el refugio para el maíz Bt establecidos por la US-EPA (US-EPA, 2006)

Plaga blanco	Tamaño del refugio	Utilización	Proximidad
Barrenador del tallo del maíz	20% (regiones maiceras) 50% (regiones aldoneras)	Refugio discreto para el barrenador	Bloques internos o externos en el rango de 800 m o franjas dentro del lote (de al menos 4 surcos)
Gusano de la raíz	20%	Refugio discreto para el gusano de la raíz	Bloques internos o externos adyacentes al lote o franjas del lote (al menos 4 surcos)
Barrenador del tallo + gusano de la raíz	20% (regiones maiceras) 50% (regiones aldoneras)	2 opciones: 1. Refugio común para el gusano de la raíz/barrenador del tallo 2. Refugios discretos para el gusano de la raíz/barrenador del tallo	Bloques internos o externos adyacentes al lote o franjas del lote (al menos 4 surcos) Se deberían usar lotes separados en el rango de 800 m

Tabla 4. Requisitos para el refugio para el algodón Bt establecidos por la US-EPA (US-EPA, 2006)

Nº genes	Región	Tamaño del refugio	Utilización	Proximidad
Individual	Toda	1. 5% externo y sin aplicaciones	1. Al menos de 50 m de ancho	1. A 800 m (preferentemente 400 m)
Dual	Arizona, California, Nuevo México, oeste de Texas	2. 5% interno 3. 20% externo con aplicaciones	2. Al menos de 50 m de ancho 3. N/A	2. Incorporado en el lote 3. A 800 m (preferentemente 400 m)
Dual	Sudeste de EE.UU	Refugio natural – sin requisito para refugio estructurado		
Individual/ dual	Solo para la lagarta rosada ^a – Arizona y California	N/A	Al menos un surco cada 6 o 10 surcos con algodón Bt	Incorporado en el lote

^a *Pectinophora gossypiella*

8. Ejemplos de planes de MRI

Los refugios pueden ser económicamente prácticos para los productores, especialmente si se permiten los tratamientos con insecticidas químicos (no Bt) en los refugios para proteger el rendimiento, permitiendo asimismo que sobrevivan suficientes insectos que sean susceptibles a la proteína control incorporada en el cultivo Bt.

Otros elementos de estos planes iniciales de MRI incluyen:

- El monitoreo anual de los insectos plaga para evaluar la susceptibilidad a la proteína de control expresada en el cultivo en las áreas con mayores tasas de adopción;
- La comunicación y educación a los productores de modo tal que éstos comprendan completamente y lleven a cabo las medidas de manejo de la resistencia;
- El seguimiento para que los productores adhieran al plan de MRI (es decir, asegurarse que los lotes refugio sean lo suficientemente grandes y que la distancia al lote protegido contra insectos sea la apropiada);
- Hacer que los productores apliquen las medidas de MRI por medio de la penalización que implica quitarle el acceso a la tecnología a quienes reiteradamente las incumplan; y
- Un plan de acción de remediación en caso de detectarse resistencia.

Un refugio constituido por plantas del mismo cultivo no protegidas contra insectos (refugio estructurado) es una fuente de insectos susceptible, pero puede no ser la única fuente ya que muchos insectos son generalistas y se alimentan y desarrollan en una variedad de plantas hospedadoras diferentes (Tabla 1), como por ejemplo el gusano bellotero *Helicoverpa zea*, el gusano cogollero *Heliothis virescens*, el gusano falso medidor *Trichoplusia ni* (Bernays y Minkenberg, 1997). Estas plagas pueden desarrollarse en otros cultivos y también en hospedadores que son especies no cultivadas, tales como aquellas que se encuentran en áreas no cultivadas y en los bordes de los lotes con presencia de malezas. Otros insectos son clasificados como especializados y se alimentan de una sola o unas pocas especies (por ej.: el barrenador europeo del maíz, *Ostrinia nubilalis*, el gusano occidental de la raíz *Diabrotica virgifera virgifera*). Para los generalistas, un refugio alternativo puede producir igual o mayor cantidad de insectos que el refugio estructurado. La US-EPA reconoció esto cuando

quitaron el requisito de un refugio estructurado para el algodón con genes insecticidas apilados, basándose en la abundancia de plantas de otras especies (no algodón) que proveen un refugio natural para las especies de noctuidos (US-EPA, 2001).

En otras regiones del mundo se ha utilizado una amplia variedad de tácticas de MRI para los cultivos protegidos contra insectos, teniendo en cuenta las prácticas agrícolas locales.

Australia. Las autoridades y productores australianos trabajaron en forma conjunta para establecer los planes de MRI con la introducción del algodón protegido contra insectos con un solo gen en 1996, limitando a cada productor con un tope del 30% del algodón cultivado por establecimiento; asegurando así un gran refugio de algodón. Este tope fue removido cuando siete años después se introdujeron los eventos apilados de algodón Bt (que contienen más de una proteína insecticida diferente). Esta revisión del requisito regulatorio refleja el menor potencial de desarrollo de la resistencia asociado con las variedades que contienen genes de control apilados. Algunos otros elementos del plan de MRI que continúan en Australia incluyen las fechas de siembra restringidas, el uso limitado de insecticidas en los refugios y el requisito de prácticas culturales luego de la cosecha (“destrucción de pupas”), todo esto en un esfuerzo para minimizar el riesgo de desarrollo de la resistencia (Davidson, 2003).

China. Dado que la unidad de producción en China es típicamente una mezcla de pequeñas parcelas de algodón, maíz, soja, trigo y maní (<5 ha en total) que sirven como hospedadores naturales para la plaga principal (*Helicoverpa armigera*), no hay requisitos para un refugio estructurado de algodón Bt en China (Wu y Guo, 2005). Hasta la fecha, el maíz protegido contra insectos no ha sido aprobado en China, por lo cual se limita la presión de selección en esta plaga que también se alimenta del maíz.

India⁴. En la India, cada bolsa de semillas de algodón Bt incluye una segunda bolsa más pequeña (20% de la primera), que contiene semillas de algodón no Bt para el refugio. Se comparte información sobre el uso apropiado del refugio.

Filipinas⁵. En las Filipinas, donde el tamaño de la unidad productiva también es pequeño, los requisitos del MRI adoptados para el maíz Bt se han basado en la necesidad de un plan de MRI estructurado en función de la penetración en el mercado, en forma similar al plan australiano pero con métricas diferentes. Mientras los productores en una región no cultiven más del 80%

⁴ <http://www.cicr.org.in/IRM.html>

⁵ http://www.bic.searca.org/info_kits/btcorn_host.pdf

de su maíz con híbridos protegidos contra el barrenador asiático del maíz, *Ostrinia furnacalis*, no se les pide que siembren el refugio.

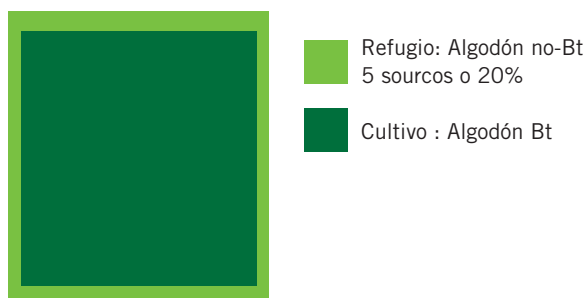
Sudáfrica. El requisito de MRI para la producción de algodón Bt es un refugio obligatorio del 5% de algodón convencional que no se trata con insecticidas. Un estudio local ha demostrado que existe suficiente refugio natural en la vegetación circundante en las áreas algodoneras (Green *et al.*, 2003). La combinación del refugio estructurado del 5% y del refugio natural reduce la probabilidad de desarrollo de resistencia a la proteína Cry1Ac en las plagas locales: el gusano bellotero africano *Helicoverpa armigera* (Hübner), el gusano bellotero colorado *Diparopsis castanea* (Hampson) y otras dos especies de gusanos belloteros, *Earias biplaga* (Walker) y *E. insulana* (Boisduval). Recientemente se han aprobado en Sudáfrica algunos eventos de algodón con genes insecticidas acumulados.

Todos los planes descritos arriba incluyen el monitoreo anual de la susceptibilidad de los insectos blanco y/o el monitoreo de rutina para detectar el daño causado por plagas con el seguimiento para evaluar si las poblaciones de insectos plaga primarios se encuentran dañando al cultivo Bt.

8.1. ESTUDIO DE CASO: REQUISITOS DEL MRI PARA EL ALGODÓN BT EN INDIA

El Comité de Aprobación de Ingeniería Genética (GEAC por las siglas en inglés de *Genetic Engineering Approval Committee*) es el cuerpo oficial a cargo de la liberación comercial de los cultivos transgénicos en la India, incluyendo las estrategias para el manejo de la resistencia en los insectos. Éste se solicita con el fin de incrementar la durabilidad de la tecnología y reducir las probabilidades de desarrollo de la resistencia. En particular, el algodón Bt debe sembrarse en el centro del lote y el refugio de algodón no Bt se siembra rodeando el lote central, de modo tal que cubra al menos cinco surcos o el 20% del área total sembrada, lo que sea mayor (Figura 1).

Figura 1. Esquema requerido para la siembra del refugio para el algodón Bt en India.



La mezcla de semillas Bt (el cultivo) con no Bt (el refugio) antes de la siembra no es una práctica recomendada, ya que las larvas se mueven con facilidad desde una planta hacia la adyacente. Los lineamientos indican que cada paquete de semillas de algodón protegido contra insectos, cuando es vendida, también debería contener, en una bolsa aparte, la cantidad requerida de semillas no transgénicas de modo de cumplir con los requisitos de siembra del refugio para el cultivo. El esquema de siembra debe estar indicado en el folleto incluido en la bolsa de semillas. Como el tamaño estándar de la bolsa en la India es de 450 g, cada bolsa de semillas Bt que se vende está acompañada por una menor de 120 g de semillas no Bt. Durante los primeros años posteriores a la introducción comercial del algodón Bt en India, se usaron semillas del híbrido correspondiente no Bt como refugio. Más recientemente, el GEAC permitió la flexibilidad de usar cualquier híbrido convencional no Bt para este fin.

Sin embargo, no hay bases legales para que el productor siga los requisitos de la siembra del refugio y la adhesión al cumplimiento del mismo ha sido un desafío para las compañías semilleras. Además, la comunidad científica ha sugerido que si se considera la abundancia de hospedadores alternativos para la plaga blanco y los patrones de cultivo que siguen los productores indios, el requisito de plantar áreas de refugio puede ser innecesario en algunas partes de la India (Singla *et al.*, 2010). Las múltiples plantas hospedadoras para los insectos en la vegetación nativa y el pequeño tamaño de los lotes de algodón, intercalados con los cultivos hortícolas, deberían asegurar que las polillas resistentes que emerjan de los lotes de algodón transgénico se apareen fácilmente con polillas susceptibles provenientes de otros cultivos y plantas nativas. Los refugios estructurados siguen siendo necesarios en las áreas donde *P. gossypiella* y *Earias* spp. son plagas primarias.

El requisito de generar información sobre línea base de susceptibilidad por parte del solicitante antes de la liberación comercial del algodón Bt, seguido por el requisito de monitoreo regular de la resistencia luego de la liberación comercial, han sido implementados como parte de la estrategia de MRI. Se le ha confiado al *Central Institute of Cotton Research*⁶ (CICR), el principal instituto público de investigación en algodón en la India, la responsabilidad del monitoreo regular de la susceptibilidad de los insectos blanco.

⁶ <http://www.cicr.org.in/>

9. Implementación de refugios estructurados

En los casos en que se indique el uso de un refugio estructurado separado es necesario tener consideraciones especiales para promover su implementación y manejo apropiado por parte del productor.

9.1. FLEXIBILIDAD

Es esencial ofrecer una variedad de estrategias de MRI que le permita al productor elegir la que mejor se ajuste a sus condiciones de cultivo, recursos y preferencias. Por ejemplo, los productores que cuenten con la maquinaria apropiada podrían preferir sembrar franjas de refugio dentro del cultivo Bt, mientras que otros productores podrían preferir sembrar bloques separados para el refugio y la variedad Bt. Los lineamientos o requisitos indicados para el refugio definen claramente las opciones de la configuración de siembra y los tratamientos de protección del cultivo requeridos para cada opción.

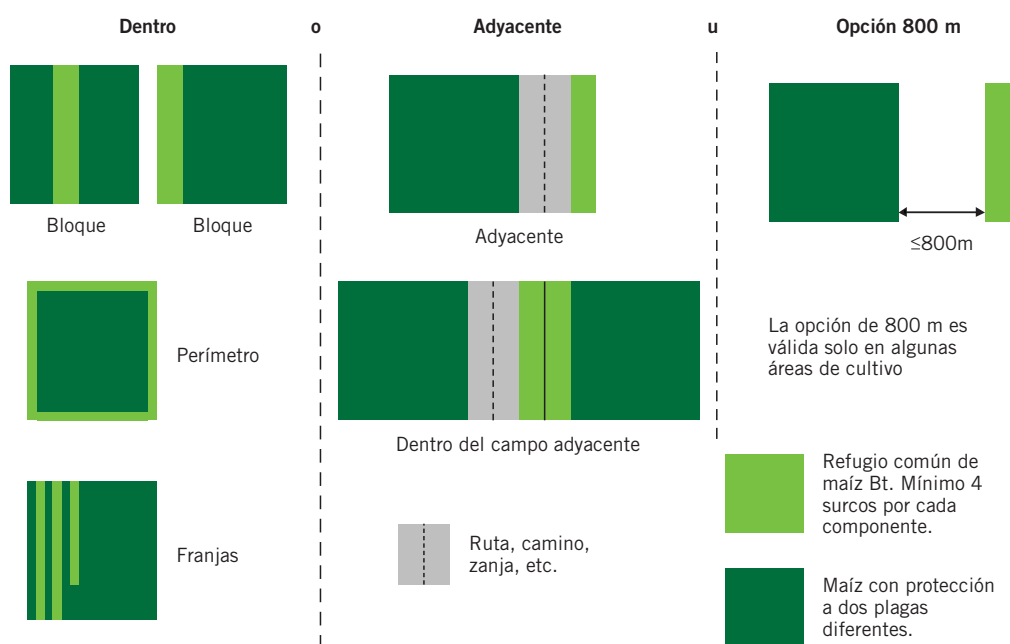
El refugio puede estar dentro del lote Bt, adyacente al lote, o, en algunas regiones, compartido entre lotes de diferentes cultivos. El refugio puede ser tratado con insecticidas o no, dependiendo de la naturaleza del cultivo GM y del tamaño del área del refugio. En general, el refugio que será tratado para controlar los insectos deberá ser mayor que el refugio que no será tratado. Para algunos cultivos Bt, donde la vegetación nativa en la zona del cultivo tiene suficientes plantas hospedadoras para sustentar una población de

insectos blanco, el uso de la vegetación nativa como refugio ha sido aprobado.

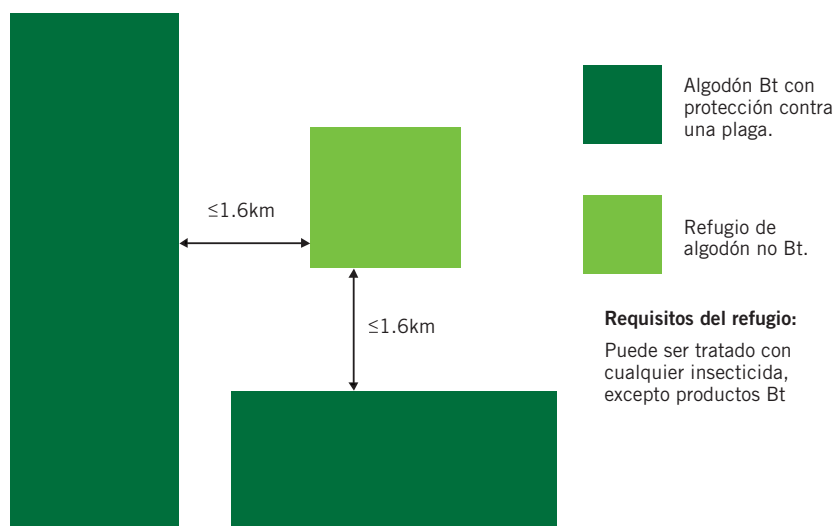
Cuando el cultivo Bt combina distintas características para la protección contra diferentes plagas, cada una de ellas puede necesitar su propio refugio. Por ejemplo, el maíz con dos proteínas insecticidas distintas que controla al barrenador europeo del tallo y al gusano de la raíz, necesitará tener refugios apropiados para ambas plagas. En algunos casos es posible compartir el refugio en base a la biología de la plaga, el ambiente del cultivo y los mecanismos de control. El tamaño y la distancia de estas áreas de refugio compartidas se determinan en función de las características acumuladas. Las guías para el productor brindan opciones de esquema de siembra para cada cultivo en el área específica (Figura 2).

El área del refugio debe manejarse de la misma manera que el cultivo. Por ejemplo, el refugio y el cultivo Bt deben sembrarse aproximadamente en la misma fecha, usando variedades con tiempos de maduración similares y los mismos insumos y prácticas (preparación del suelo, irrigación, desmalezamiento, fertilización, tratamientos con plaguicidas, densidad de siembra, etc.). Estas medidas son para asegurar que el refugio permanezca tan atractivo como el cultivo para las plagas locales a lo largo de la campaña.

Figura 2. Ejemplos de configuraciones de refugios para maíz y algodón en ciertas áreas
(Adaptación a partir de los lineamientos de MRI de la industria.)



A. Opción de 20 % de refugio de maíz en un área aldonera



B. Opción de 20% de refugio en algodón, fumigado

9.2. DISTRIBUCIÓN DE LAS SEMILLAS

La información para los productores sobre las posibles estrategias de MRI y los instrumentos legales para ponerlas en práctica puede ser provista junto con las semillas (Figura 3).

Figura 3. Ejemplo de una etiqueta impresa en la bolsa de semillas que indica los requisitos de MRI (Asociación de Productores de Maíz de Estados Unidos).



Antes de abrir la bolsa, asegúrese de leer y comprender los requerimientos para la gestión responsable del producto, incluyendo los requisitos del refugio para el manejo de la resistencia de los insectos para las características GM expresadas en las semillas, y que han sido estipulados en el acuerdo tecnológico que usted ha firmado. Al abrir y usar la bolsa, usted está ratificando su compromiso de cumplir con estos requisitos de gestión responsable del producto.

En los EE.UU. y Canadá se les solicita a los productores agropecuarios que compran u obtienen semillas GM que firmen un acuerdo por el cual se comprometen a usar uno o más sistemas de MRI durante la producción de los cultivos Bt. La información sobre las opciones de MRI para los cultivos se distribuye con las semillas y queda a criterio del agricultor elegir el sistema que mejor se adecua a sus condiciones de producción, prácticas de cultivo y recursos.

9.3. EDUCACIÓN Y COMUNICACIÓN AL PRODUCTOR

La educación al productor debería cubrir no solo la información sobre los requisitos del refugio, sino también sobre las razones por las cuales se deben aplicar y de qué manera lo benefician a él y al sistema agrícola a largo plazo. Para ayudar a que los productores comprendan plenamente sus responsabilidades y cómo cumplir con los requisitos o recomendaciones para el refugio en sus circunstancias particulares es necesaria una comunicación frecuente y adaptada a cada localidad.

9.4. MANEJO DEL REFUGIO

Si la estrategia de MRI elegida incluye la siembra de áreas refugio, el diseño del lote y los requerimientos de semillas y otros insumos deben conocerse completamente y prepararse antes de la siembra. Del mismo modo, si la estrategia de MRI requiere tratamiento con insecticidas, su elección y esquema de aplicaciones deben ser determinados antes de la siembra. En algunos casos, el cultivo puede contener características para el control de malezas, las cuales no están presentes en las plantas del refugio, o viceversa. En este caso, el productor necesita además seleccionar los métodos de control de malezas apropiados para el cultivo Bt y el refugio en base a la genética de las variedades.

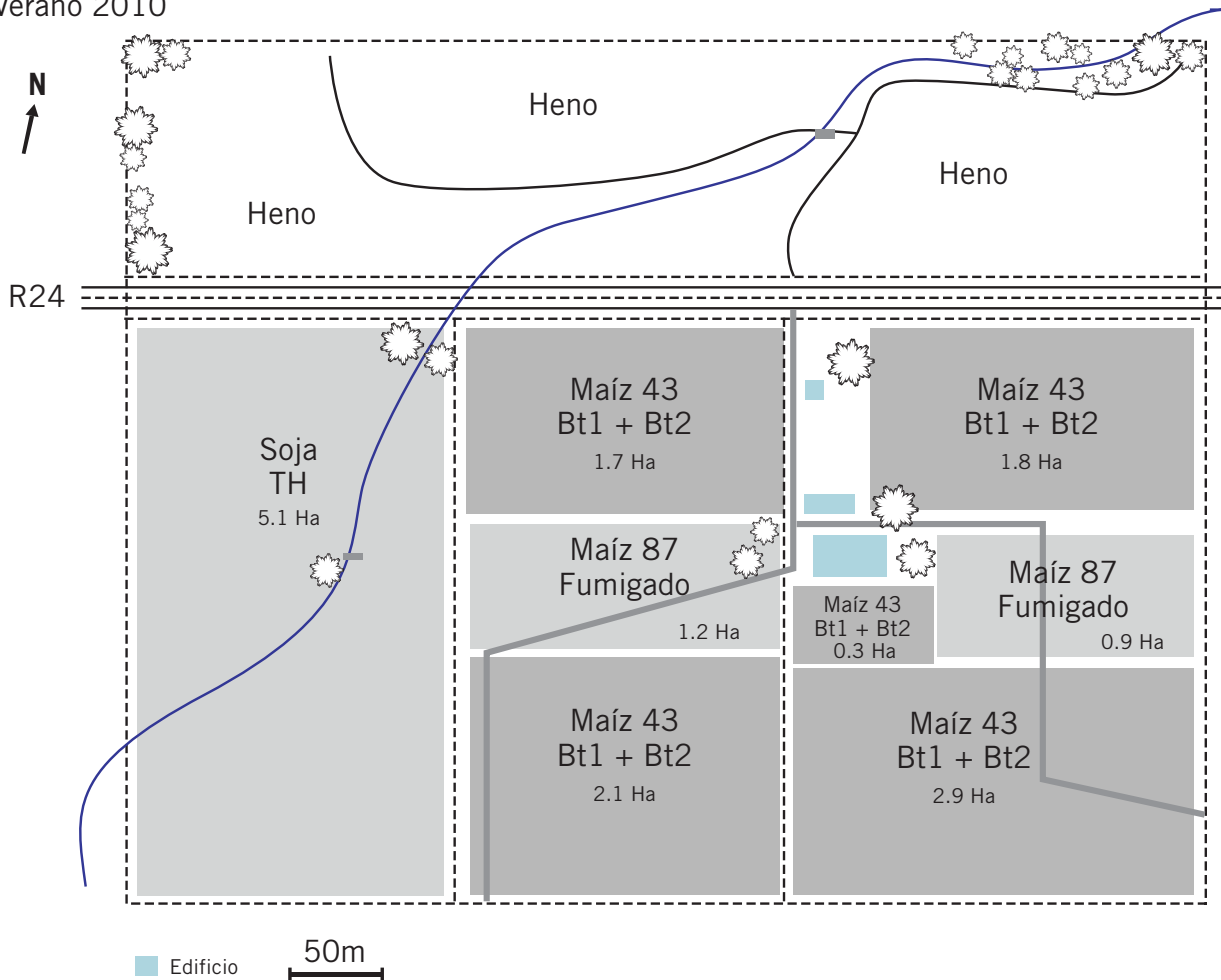
9.4.1. Planificación

Cuando se elige una opción con refugio para el MRI puede resultar útil contar con un mapa del área a sembrar para asegurarse que el volumen y la proximidad del refugio cumplan con los requisitos del MRI para cada variedad protegida contra insectos. Los mapas de los lotes ayudan a definir la estrategia de siembra, además de guiar el manejo de los cultivos y las áreas refugio a lo largo de la campaña y durante la cosecha (Figura 4).

9. Implementación de refugios estructurados

Figura 4. Ejemplo del mapa de un campo que muestra la posición relativa de los cultivos protegidos contra insectos y las áreas refugio (TH: tolerante a herbicida).

Campo Creekside
Verano 2010



La planificación, siembra y manejo del refugio y del cultivo pueden simplificarse si los lotes y las áreas refugio se esquematizan en un mapa. Las áreas de refugio pueden tener requerimientos diferentes de tratamientos con plaguicidas, y los mapas de los lotes ayudan a asegurar que estos se realicen en los lotes correctos. Donde se permiten áreas de refugio comunes para ciertos cultivos Bt, los productores deberían planificar estas áreas antes de comprar las semillas y sembrarlas para asegurarse de cumplir con los requisitos del MRI. Si no fuera factible realizar

un mapa, se deberían llevar otros tipos de registro que informen la localización de los refugios y de los lotes Bt.

Las calculadoras de refugio se desarrollaron para ayudar a determinar el área de refugio necesaria para un cultivo Bt específico o para un refugio común a dos o más cultivos Bt. La Tabla 5 brinda ejemplos de calculadoras de refugio para dos requisitos diferentes de áreas de refugio.

Tabla 5. Ejemplos de calculadoras de refugio suministradas con los requisitos de MRI cuando se compran las semillas Bt.

A: Para un requisito de 5% de refugio

Ejemplos					Su campo
Tamaño del lote (hectáreas) =	40	120	200	300	
Máximo de hectáreas para el cultivo Bt: Tamaño del lote x 0,95 =	38	114	190	285	
Mínimo de hectáreas para el refugio del 5%: Tamaño del lote x 0,05	2	6	10	15	

B: Para un requisito de 20% de refugio

Ejemplos					Su campo
Tamaño del lote (hectáreas) =	40	120	200	300	
Máximo de hectáreas para el cultivo Bt: Tamaño del lote x 0,80 =	32	86	160	240	
Mínimo de hectáreas para el refugio el 20%: Tamaño del lote x 0,20 =	8	24	40	60	

9.4.2. Siembra

Los refugios para muchos eventos con protección contra insectos requieren la siembra precisa de determinadas semillas en áreas específicas del lote. Los productores deberían sembrar y manejar tanto el refugio como el cultivo Bt con los mismos protocolos para asegurarse que las plantas crezcan y maduren al mismo tiempo. En algunos casos, las plantas protegidas contra insectos que accidentalmente queden dentro del refugio pueden disminuir la eficacia de la estrategia de MRI y la funcionalidad del refugio. Por ello, los productores deberían asegurarse que la maquinaria de siembra se limpie exhaustivamente antes de la siembra del área refugio.

El refugio se puede sembrar dentro o adyacente al cultivo Bt y no debe presentar el mismo mecanismo de protección contra insectos. Cuando se siembra un refugio perimetral o como franjas dentro del lote, se puede determinar un ancho mínimo de las franjas para cada combinación cultivo-característica-ambiente, y esto deberá incluirse en la información que se le brinda al productor. Cuando el refugio se siembra como franjas dentro del lote, el volumen necesario de semillas para el refugio se puede cargar en las tolvas o cajones específicos de la sembradora (por ejemplo en el último) de modo tal que aseguren la siembra del ancho requerido de franjas de refugio. Cuando se hayan terminado las semillas para el refugio, los cajones pueden rellenarse con las semillas Bt para lo que queda de la siembra.

En algunos casos las áreas de refugio deberían estar bajo el control del mismo productor que maneja el cultivo Bt, especialmente si el establecimiento o los lotes son grandes. Es aconsejable la cooperación entre los productores para el manejo de las áreas refugio, especialmente si el tamaño de sus campos es pequeño.

9.4.3. Toma de registros

Se incentiva a los productores para que al sembrar registren la ubicación y dimensiones de cualquier refugio con respecto al cultivo Bt. Las áreas refugio deberían recibir los mismos insumos y protocolos de manejo que se apliquen a las variedades protegidas. En particular, se incentiva que el productor registre los protocolos de preparación del suelo que fueron usados y todos los insumos para el cultivo Bt y el refugio durante la campaña. Además, es útil registrar todas las actividades de inspección del lote y documentar cualquier daño por insectos identificado en el cultivo protegido y en el refugio.

El registro es una herramienta importante para manejar el desarrollo de la resistencia de insectos en los cultivos Bt, sin embargo, también puede ser una actividad que insume mucho tiempo y algunos productores no la completan. En algunos casos, los productores archivan las etiquetas de las bolsas de semillas y escriben la fecha de siembra en ellas. Conjuntamente con un mapa de las áreas sembradas, esto suministraría algún tipo de registro para esa campaña.

9. Implementación de refugios estructurados

Este manual contiene ejemplos de formularios diseñados para facilitar la toma de datos relevantes para el manejo de la resistencia de los insectos (Apéndices 2 y 3). Los productores pueden adaptar estos formularios a sus propios requisitos.

9.5 MONITOREO DE LA IMPLEMENTACIÓN DE LOS REFUGIOS

Es una práctica común para los desarrolladores de la tecnología evaluar la implementación de las estrategias de MRI recomendadas para sus semillas. Algunas autoridades regulatorias solicitan el monitoreo

y el reporte obligatorio como parte de sus condiciones de autorización para el uso comercial de los eventos Bt. La mayoría de los desarrolladores o compañías semilleras trabajan con sus clientes durante la campaña agrícola, discutiendo los programas de manejo del cultivo, los desafíos encontrados y chequeando el daño por

Es una práctica común para los desarrolladores de la tecnología evaluar la implementación de las estrategias de MRI recomendadas para sus semillas.

insectos. Se debería asistir de forma especial a aquellos productores que no hubiesen cumplido con los requisitos del MRI para las semillas Bt. En algunos casos, a los productores que repetidamente ignoren los requisitos del refugio se les puede negar el acceso a las semillas Bt en las subsiguientes campañas.

La información proveniente de las evaluaciones de implementación del refugio debería ser usada para refinar los programas de educación en torno a la necesidad de refugios y cómo implementarlos de la mejor manera. Esta información puede también ser usada para revisar los requisitos del MRI para ver si éstos pueden hacerse más flexibles o más prácticos sin comprometer significativamente su eficacia.

9.6. INFORMES

Se incentiva a los productores para que informen el comportamiento y los daños inesperados debidos a los insectos durante la campaña. La información de contacto para enviar estos informes debería formar parte de la etiqueta de la bolsa de semillas. El proveedor de las semillas discutirá el daño con el productor y juntos determinarán la mejor manera de proteger el cultivo y qué acciones de seguimiento serán necesarias para investigar y manejar cualquier potencial desarrollo de resistencia en las poblaciones locales de insectos.



10. Planes de remediación

Debería implementarse un plan de acción de remediación si se confirmara la resistencia a campo de un insecto blanco a un cultivo Bt. Dependiendo de la situación, los planes de remediación podrían tener múltiples componentes, tales como la siembra de un refugio estructurado, la aplicación de insecticidas u otras herramientas de manejo de plagas, y/o temporalmente detener las ventas de esas semillas Bt en el área afectada. Los objetivos inmediatos de las acciones de remediación deberían ser:

- Proteger la inversión en el cultivo realizada por el productor;
- Caracterizar los insectos resistentes para permitir el diseño de opciones de manejo específicas para el caso; y
- Limitar la dispersión de estos insectos utilizando los mejores métodos de control disponibles.

Asimismo, una vez que se haya determinado que el daño fue causado por los insectos blanco y que las plantas contienen la proteína insecticida, la

investigación debería proseguir colectando y evaluando las poblaciones de los insectos para determinar la susceptibilidad a la proteína insecticida. Esta evaluación sería coordinada por el desarrollador de la tecnología y debería hacerse en el área específica donde el cultivo fue dañado y en las regiones circundantes para delinear el rango de resistencia y comparar los resultados de los bioensayos con los datos de la línea base precomercial.

En el peor de los escenarios, en el que se confirmara la resistencia de los insectos y que ésta pareciera estar dispersándose, se debería desarrollar un plan de remediación de largo plazo. Éste puede consistir en la integración de otras tecnologías de control de plagas. Se deberían identificar otras opciones de control de las plagas blanco clave, incluyendo la labranza del suelo, la aplicación de insecticidas y el uso de características GM alternativas para el control de insectos. Si no se dispone de alternativas efectivas y el cultivo Bt ya no brinda los niveles de control deseado para las plagas clave, se podrían suspender o restringir las ventas de esas semillas.



11. Discusión y conclusiones

El manejo integrado de plagas es una estrategia efectiva y ambientalmente amigable basada en un conjunto de técnicas de control que aúnan información genética y biológica con métodos culturales y métodos modernos de manejo de plagas para lograr un sistema de producción agrícola más sostenible. Desde el inicio de la agricultura, los productores han adoptado un amplio rango de tácticas para compensar el daño causado por los insectos. Éstas incluyen métodos de baja tecnología donde los trabajadores remueven manualmente los insectos plaga de las plantas hasta sistemas de MIP sofisticados que incluyen una mirada de enfoques de los cuales los cultivos Bt son solo una de las herramientas tecnológicas más recientes. El manejo de la resistencia de insectos emplea muchos de los principios usados en el MIP para controlar y minimizar los ataques de plagas con el fin de preservar y ayudar a mantener todas las estrategias de control posibles.

Salvaguardar los cultivos Bt de la resistencia de los insectos no es una preocupación importante solo para los productores, sino también para los proveedores de la tecnología y las compañías semilleras que desarrollan estos cultivos genéticamente modificados. Si bien se han identificado cientos de cepas de *Bacillus thuringiensis* (Crickmore, *et al.*, 1998), solo unas pocas han tenido éxito hasta la actualidad como fuente de genes capaces de conferir niveles aceptables de control de las plagas agrícolas más importantes. La búsqueda exhaustiva de nuevas cepas microbianas y sus respectivas proteínas insecticidas ha provisto una variedad de genes candidatos para la transformación de los cultivos. Además, los proveedores de la tecnología están actualmente desarrollando y comercializando características apiladas que expresan dos o más proteínas insecticidas diferentes contra la misma plaga para prolongar la durabilidad de las características. El mayor conocimiento sobre el funcionamiento de estas proteínas insecticidas a nivel molecular ha llevado al diseño de proteínas con mejor eficacia y espectro de actividad (Bravo and Soberón, 2008; Soberón, *et al.*, 2007; Walters, *et al.*, 2008). Como resultado de estos avances científicos, las proteínas insecticidas siguen siendo un recurso importante de protección contra insectos que deberían ser preservadas por su eficacia excepcional y enormes beneficios para el ambiente y la salud.

Si los insectos blanco desarrollasen resistencia a los cultivos Bt, indudablemente el daño causado por estos insectos aumentaría, llevando a la reducción en el rendimiento del cultivo y en el valor de la tecnología de control de insectos. La confirmación de la resistencia tendría consecuencias negativas para el

ambiente y los productores, lo cual podría implicar retirar el producto del mercado y usar más insecticidas para el control de plagas. Sin embargo, las consecuencias difieren según las plagas: para las plagas blanco principales, la resistencia llevaría a la reducción del rendimiento, pero para las plagas secundarias, el beneficio de la tecnología seguiría vigente y una medida drástica, como la de retirar el producto del mercado, podría implicar volver a los insecticidas químicos sintéticos innecesariamente, o podría poner mayor presión de selección sobre las otras prácticas de manejo.

Con el fin de identificar las mejores tácticas para una estrategia robusta de MRI para extender la durabilidad de los cultivos Bt en una región o país dado, se deberían evaluar los siguientes elementos:

- La biología y la ecología de la plaga;
- La eficacia y la dosis de la característica;
- Los patrones esperados de uso del producto;
- Los sistemas locales de producción agrícola;
- El uso de los cultivos Bt dentro de programas de MIP;
- La línea base de susceptibilidad de los insectos blanco y las opciones de monitoreo;
- La educación y comunicación a los productores y todas las partes involucradas; y
- Un plan de acción de remediación en caso de que se desarrolle la resistencia.

Cada uno de estos elementos debe ser evaluado con un enfoque específico en las condiciones y prácticas agrícolas locales, las que deberían ser consideradas en el desarrollo del plan de MRI. No importa cuán detallada sea la información científica, estas condiciones locales son críticas para el uso exitoso del MRI. La participación efectiva de todas las partes involucradas, incluyendo los expertos de los proveedores de la tecnología, los agricultores, la academia y el gobierno, es otro factor importante durante el desarrollo e implementación de una estrategia de MRI. A medida que se obtenga nueva información de las investigaciones sobre la biología de las plagas y la genética de la resistencia, y que se gane más experiencia con los cultivos Bt, los planes y tácticas del MRI deberán ser revisados y refinados para prolongar la durabilidad de todos los cultivos protegidos contra insectos a nivel mundial.

12. Referencias

- Bernays EA and Minkenberg OPJM. 1997. Insect herbivores: different reasons for being a generalist. *Ecology* 7:1157-1169.
- Betz FS, Hammond BG and Fuchs RL. 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Reg Toxicol Pharmacol* 32:156-173.
- Bravo A, and Soberón M. 2008. How to cope with insect resistance to Bt toxins? *Trends in Biotechnol* 26: 573-579.
- Brookes G and Barfoot P. 2006. GM crops: The first ten years – Global socio-economic and environmental impacts. *ISAAA Briefs*, Brief 36: <http://www.isaaa.org/>
- Crickmore, N., D.R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, and D.H. Dean. 1998. Revision of the Nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62: 807-813. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/intro.html [vigente al 4 de septiembre de 2011]
- Davidson, S. 2003. Biotech cotton – a budding field. *Ecos* 14: 28-31.
- ETS. 2009. Guide for Stewardship of Biotechnology-Derived Plant Products. Excellence Through Stewardship. <http://www.excellencethroughstewardship.org/LinkClick.aspx?fileticket=1bxJGf10dcs%3d&tabid=84> (en inglés), <http://www.excellencethroughstewardship.org/LinkClick.aspx?fileticket=R16lq-gQt0E%3d&tabid=84> (Versión traducida al español) [Consultados el 4 de septiembre de 2011]
- Ferré J, and Van Rie J. 2002. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Ann Rev Entomol* 47:501-533.
- Ferré J, Real DM, Van Rie J, Jansens S, and Peferoen M. 1991. Resistance to the *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. *Proc Nat Acad Sci, USA* 88:5119-5123.
- Fit G. 2003. Deployment and impact of transgenic Bt cotton in Australia. In *The Economic and Environmental Impacts of AgBiotech: A Global Perspective*, ed. Kalaitzandonakes, NG, Springer, New York.
- Gianessi LP, Silvers CS, Sankula S and Carpenter JE, 2002. Plant biotechnology: Current and potential impact for improving pest management in U.S. agriculture. An analysis of 40 case studies. www.ncfap.org/publications.html [accessed 26 March 2009]
- Green WM, de Billot MC, Joffe T, van Staden L, Bennett-Nel A, du Toit CLN and van der Westhuizen L. 2003. Indigenous plants and weeds on the Makhathini Flats as refuge hosts to maintain bollworm population susceptibility to transgenic cotton (Bollgard™). *African Entomology* 11(1): 21–29.
- Gould F. 1988. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. *Ann Rev Entomol* 43:701-726.
- James, C. (2010). Global Status of Commercialised Biotech/GM Crops: 2010. ISAAA Brief No. 42. ISAAA: Ithaca, NY.
- Marçon PCRG, Siegried BD, Spencer T, and Hutchinson WD. 2000. Development of a diagnostic concentrations for monitoring *Bacillus thuringiensis* resistance in European Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae). *J Econ Entomol* 93:925-930.
- Matten SR, Head GP and Quemada HD. 2008 How governmental regulation can help or hinder the integration of Bt crops within IPM programmes, in *Integration of insect-resistant GM crops within IPM Programmes*. eds. Romeis J, Shelton AM and Kennedy GG, Springer, New York.

12. Referencias

- OECD. 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-derived insect control protein. Organization for Economic Co-operation and Development <http://www.oecd.org/dataoecd/36/61/46815888.pdf> [consultado el 4 de septiembre de 2011]
- Roush RT. 1994. Managing pests and their resistance to *Bacillus thuringiensis*: Can transgenic crops be better than sprays? *Biocontrol Sci Tech* 4:501-516.
- Roush RT. 1997. Bt-transgenic crops: just another pretty insecticide or a chance for a new start in resistance management? *Pestic Sci* 51:328-334.
- Singla, R, Johnson, P and Misra, S. 2010. Efficient Refuge policies for Bt cotton in India. Agricultural & Applied Economics Association. 2010AAEA, CAES, & WAEA Joint Annual Meeting, Denver, Colorado.
- Soberón M, Pardo-López L, López I, Gómez I, Tabashnik BE and Bravo A. 2007. Engineering modified Bt toxins to counter insect resistance. *Science* 318:1640-1642.
- Tabashnik BE, Johnson KW, Engleman JT, and Baum JA. 1996. Cross-resistance of the diamondback moth indicates altered interactions with domain II of *Bacillus thuringiensis* toxins. *Appl Environ Microbiol* 62:2839-2844.
- US-EPA. 2001. Biopesticides Registration Action Document – *Bacillus thuringiensis* plant-incorporated protectants. United States Environmental Protection Agency. http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/bt_brad.htm [vigente al 4 de septiembre de 2011]
- US-EPA. 2006. Insect Resistance Management Fact Sheet for *Bacillus thuringiensis* (Bt) Corn Products. (http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/bt_corn_refuge_2006.htm) [Vigente al 4 de septiembre de 2011]
- Van Rie J, McGaughey WH, Johnson DE, Barnett BD, and Van Mellaert H. 1990. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* 247:72-74.
- Yu SJ, *The toxicology and biochemistry of insecticides*. CRC Press, Boca Raton, FL (2008).
- Walters FS, Stacy CM, Lee MK, Palekar N, and Chen JS. 2008. An engineered chymotrypsin/cathepsin G site in domain I renders *Bacillus thuringiensis* Cry3A active against western corn rootworm larvae. *Appl Environ Microbiol* 74: 367-374.
- Wu KM and Guo YY. 2005. The evolution of cotton pest management practices in China. *Ann Rev Entomol* 50:31-52.
- Zhao JZ, Cao J, Collins HL, Bates SL, Roush RT, Earle ED, and Shelton AM. 2005. Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two *Bacillus thuringiensis* genes speeds insect adaptation to pyramided plants. *Proc Nat Acad Sci USA* 102:8426-8430.

Apéndice 1. Resumen de los puntos principales

PLANES DE MANEJO DE LA RESISTENCIA DE INSECTOS

- Sin importar cuán detallados sean los estudios, la ciencia por sí sola no dará como resultado un plan robusto de manejo de la resistencia de insectos (MRI) si no es junto con la experiencia práctica a campo, la información sobre los ambientes locales/regionales y las prácticas empleadas por los agricultores.
- Los planes de MRI necesitan ser adecuados para cada situación productiva.
- El objetivo del MRI es permitir que los productores tengan acceso a la tecnología, suministrando al mismo tiempo lineamientos para la gestión responsable del producto que asegurarán un nivel aceptable de protección contra el desarrollo de la resistencia.
- La adopción de los planes de MRI para los cultivos Bt ha sido ampliamente exitosa porque han sido desarrollados con la amplia participación de todas las partes involucradas.

APILAMIENTO DE CARACTERÍSTICAS DE CONTROL DE INSECTOS

- Cuando las estrategias de apilamiento de características de control de insectos consisten en el uso simultáneo de dos proteínas insecticidas con diferentes modos de acción contra las mismas plagas blanco, éstas pueden ser usadas para reducir el desarrollo de resistencia de los insectos.
- Cuando los genes acumulados tienen como blanco plagas distintas, no hay ventaja en el MRI y aún se necesitan todos los requisitos de refugio.

REDUCIR EL RIESGO DE RESISTENCIA DE LAS PLAGAS

- Es importante monitorear la tasa de adopción de los cultivos Bt con una frecuencia regular para identificar las áreas de mayor riesgo.
- La práctica de conservar parte de la cosecha para sembrarla en la siguiente campaña puede tener impactos negativos importantes en el manejo de la resistencia para los cultivos Bt.
- Sin los CC/AC realizados por las compañías semilleras, el uso de la alta dosis uniforme para la característica e incluso su pureza pueden estar comprometidos.
- El monitoreo de la resistencia incluye dos enfoques básicos: monitorear los insectos para detectar cambios en su susceptibilidad a la proteína de control y monitorear los lotes para detectar niveles de daño no esperados debidos a la plaga blanco.
- Como primer paso, debería determinarse la línea base de susceptibilidad de las poblaciones de la plaga a la característica en toda la región de cultivo en forma previa a la introducción de los cultivos Bt.
- El monitoreo de los lotes por parte de los productores para detectar el daño debido a las plagas blanco principales es un componente importante en la detección temprana de la resistencia.
- Los insecticidas Bt no deberían ser utilizados en los cultivos GM protegidos contra insectos ni en los refugios correspondientes a estos cultivos si la protección incorporada está dada por una proteína Bt.
- Cuando los niveles de presión de la plaga provocan la necesidad de medidas de control adicionales, los productores deberían consultar los lineamientos locales y elegir una opción de control, o combinación de tratamientos, que causen el menor impacto sobre los organismos benéficos.
- Se recomienda que los productores usen guías de MIP locales para identificar los esquemas de monitoreo apropiados, las plagas a monitorear, los umbrales de daño económico críticos, y las medidas de control alternativas adecuadas.
- El manejo de la resistencia es responsabilidad de todas las partes involucradas.

Apéndice 1. Resumen de los puntos principales

- Es importante que los productores sean entrenados en lugares familiares y relevantes a su situación, teniendo en cuenta la cultura, el idioma, el nivel educativo, el acceso a la información y cómo se obtienen los productos.
- La información sobre las opciones de MRI para los cultivos se distribuye con las semillas y queda a criterio de los productores elegir cuál se adecua mejor a sus condiciones de producción, prácticas de cultivo y recursos.
- Se recomienda implementar los refugios apropiados para diluir la selección y proveer insectos susceptibles.

USO DE UN SISTEMA DE REFUGIO

- Si la estrategia de MRI elegida incluye la siembra de un refugio, el diseño y los requerimientos de semillas y otros insumos deben conocerse completamente y prepararse antes de la siembra.
- Los productores que eligen una opción con refugio para el MRI deben realizar un mapa de las áreas sembradas y asegurarse que el tamaño y la proximidad del refugio cumplan con los requisitos del MRI para cada variedad protegida contra insectos.
- Los refugios en el MRI para muchas variedades de cultivos Bt requieren la siembra precisa de determinadas semillas en áreas específicas en cada campo.

ADHESIÓN, TOMA DE REGISTROS E INFORMES

- Es una práctica común de los desarrolladores de la tecnología monitorear la adhesión de los productores a las estrategias de MRI recomendadas para sus semillas.
- El registro es una herramienta importante para manejar el desarrollo de la resistencia de insectos en los cultivos protegidos contra insectos.
- La mayoría de los acuerdos con productores requieren que el productor reporte la actividad y el daño inesperado de insectos durante la campaña agrícola.

Apéndice 2. Registro de la siembra del refugio

REGISTRO DE SIEMBRA Y MAPA DEL REFUGIO

INSTRUCCIONES	Año de Siembra: _____
<p>Este Registro de Siembra y Mapa del Refugio es un ejemplo que puede ser adecuado a las necesidades de los productores.</p> <p>El registro se completa para documentar la implementación del refugio como parte de un plan de MRI de hasta tres (3) áreas de cultivo.</p> <p>Este formulario y mapa(s) anexo(s) deben ser completados por el Productor dentro de los cinco (5) días hábiles posteriores a la siembra.</p> <p>El Registro de Siembra y Mapa del Refugio deben ser guardados por el Productor durante tres (3) años.</p>	
PAGINA 1 DE 1	

PRODUCTOR			UNIDAD PRODUCTIVA	
Apellido	Nombre	Inicial(es)	Identificación	Detalle GPS
Dirección			Información de MRI utilizada	
Ciudad			<input type="checkbox"/> Etiqueta de la semilla <input type="checkbox"/> Guía para el productor <input type="checkbox"/> Entrenamiento <input type="checkbox"/> Distribuidor de semillas <input type="checkbox"/> Otras _____ <input type="checkbox"/> Ninguna	
# Tel			El MRI es parte de una estrategia más amplia de MIP <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
ADMINISTRADOR DEL CAMPO			# Tel.	
¿El productor es responsable por la implementación del plan de MRI? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No			Sino, nombre de la Persona Responsable del MRI	
INFORMACIÓN DE SIEMBRA PARA EL CAMPO A				
Código de Identificación o Descripción Geográfica			Cultivo: _____	
			Plagas Principales	
			Plagas Secundarias	
Variedad del Cultivo GM	Caracter(es) para el control insectos	Dimensiones del lote o parcela (m x m) Ha	Pesticidas usados sobre el cultivo GM	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
Refugio del Cultivo <input type="checkbox"/> Variedad	Estructura del Refugio <input type="checkbox"/> Dentro del campo <input type="checkbox"/> Adyacente <input type="checkbox"/> Campo cercano; distancia: _____	Dimensiones del Refugio Refuge (m x m) Ha	Refugio <input type="checkbox"/> No fumigado <input type="checkbox"/> Fumigado con: _____	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
¿El refugio del cultivo recibió los mismos insumos y manejo que el evento de cultivo biotecnológico? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No			Comentarios Adicionales	
			Se adjuntó mapa del cultivo y del refugio <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
INFORMACIÓN DE SIEMBRA PARA EL CAMPO B				
Código de Identificación o Descripción Geográfica			Cultivo: _____	
			Plagas Principales	
			Plagas Secundarias	
Variedad del Cultivo GM	Caracter(es) para el control insectos	Dimensiones del lote o parcela (m x m) Ha	Pesticidas usados sobre el cultivo GM	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
Refugio del Cultivo <input type="checkbox"/> Variedad	Estructura del Refugio <input type="checkbox"/> Dentro del campo <input type="checkbox"/> Adyacente <input type="checkbox"/> Campo cercano; distancia: _____	Dimensiones del Refugio Refuge (m x m) Ha	Refugio <input type="checkbox"/> No fumigado <input type="checkbox"/> Fumigado con: _____	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
¿El refugio del cultivo recibió los mismos insumos y manejo que el evento de cultivo biotecnológico? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No			Comentarios Adicionales	
			Se adjuntó mapa del cultivo y del refugio <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
INFORMACIÓN DE SIEMBRA PARA EL CAMPO C				
Código de Identificación o Descripción Geográfica			Cultivo: _____	
			Plagas Principales	
			Plagas Secundarias	
Variedad del Cultivo GM	Caracter(es) para el control insectos	Dimensiones del lote o parcela (m x m) Ha	Pesticidas usados sobre el cultivo GM	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
Refugio del Cultivo <input type="checkbox"/> Variedad	Estructura del Refugio <input type="checkbox"/> Dentro del campo <input type="checkbox"/> Adyacente <input type="checkbox"/> Campo cercano; distancia: _____	Dimensiones del Refugio Refuge (m x m) Ha	Refugio <input type="checkbox"/> No fumigado <input type="checkbox"/> Fumigado con: _____	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
¿El refugio del cultivo recibió los mismos insumos y manejo que el evento de cultivo biotecnológico? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No			Comentarios Adicionales	
			Se adjuntó mapa del cultivo y del refugio <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Registrado por: _____ Contacto: _____				

Apéndice 3. Registro del monitoreo

REGISTRO DEL MRI Y MONITOREO

INSTRUCCIONES	Año de Siembra: _____
<p>Este Registro del MRI y monitoreo es utilizado para documentar todo monitoreo del comportamiento del cultivo y del daño provocado por insectos, y debe ser guardado por tres (3) campañas en una Carpeta de Documentos del MRI. El uso de este formulario es voluntario. Se incentiva a que los productores adapten este registro para que se adecue a sus necesidades.</p> <p>El administrador del campo debería monitorear el cultivo GM y el refugio para determinar los daños provocados por los insectos y el comportamiento del cultivo desde el momento de la siembra hasta la cosecha. El administrador del campo debería incrementar la frecuencia del monitoreo cuando la presencia de la plaga sea grande o sostenida. Para el manejo del cultivo GM y del refugio, se deberían registrar los tratamientos preventivos, culturales, biológicos y químicos con la fecha de su aplicación.</p>	
PÁGINA 1 DE 1	

PRODUCTOR Apellido	Nombre	Inicial(es)	UNIDAD PRODUCTIVA Localización del sitio
ADMINISTRADOR DEL CAMPO ¿El productor es responsable por la implementación del plan de MRI? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Sino, nombre de la Persona Responsable del MRI	# Tel.	Código de Identificación

DETALLES DEL CAMPO Código de Identificación o Descripción Geográfica		Plagas Principales	Plagas Secundarias
Cultivo GM <input type="checkbox"/> Algodón <input type="checkbox"/> Maíz <input type="checkbox"/> Otro _____	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)	Siembra del Refugio <input type="checkbox"/> Variedad _____	Fecha de Siembra (DD-MM-AAAA)
Caracteres para el control insectos	Insecto(s) blanco	¿El refugio del cultivo es sembrado y administrado por la misma persona? <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	

MANEJO DEL CULTIVO GM				MANEJO DEL REFUGIO			
Antes de la campaña Fecha/ Acción	Durante la campaña Fecha/ Acción	Pre-cosecha Fecha/ Acción	Post-cosecha Fecha/ Acción	Antes de la campaña Fecha/ Acción	Durante la campaña Fecha/ Acción	Pre-cosecha Fecha/ Acción	Post-cosecha Fecha/ Acción

MONITOREO DEL CULTIVO GM				MONITOREO DEL REFUGIO			
Fecha (DD-MM-AAAA)	Maduración del Cultivo	Densidad del Cultivo	Comentarios	Fecha (DD-MM-AAAA)	Maduración del Refugio	Densidad del Refugio	Comentarios

INSPECCIÓN DE PLAGAS					
Fecha (DD-MM-AAAA)	Hora	Observación	Estado de Desarrollo del Insecto Blanco	¿Se necesita una acción de remediación?	Acción tomada
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:
				<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí; Descripción:	<input type="checkbox"/> Sí; Fecha:

Completado por _____	Número de contacto _____
----------------------	--------------------------

Apéndice 4. Ejemplos de programas de MRI locales y regionales

(Sitios consultados en septiembre de 2011)

Protección contra insectos Optimum® Intrasect™. Guía de uso del producto. Requisitos del manejo de la resistencia de insectos (MRI); EE.UU.:

http://www.pioneer.com/pv_obj_cache/pv_obj_id_D2C111E4B56A20F8559A4D7C9F95C3BF74390500/filename/oi pug.pdf (documento en inglés)

Manejo de la Resistencia de Insectos en el control de los mosquitos vectores de la malaria, IRAC:

<http://www.irac-online.org/wp-content/uploads/2009/09/IRM-control-mosquito-vectors-of-malariaNov10-v1.pdf> (documento en inglés)

MRI para el maíz Herculex™, DOW, EE.UU.:

http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDAS/dh_003f/0901b8038003fd1e.pdf?filepath=herculex/pdfs/noreg/010-16128.pdf&fromPage=GetDoc (documento en inglés)

Guía para el productor sobre el MRI para todos los cultivos Bt de Monsanto 2011. EE.UU.:

<http://www.monsanto.com/SiteCollectionDocuments/IRM-Grower-Guide.pdf>

Programas de MRI & MIM de Monsanto para los cultivos RI y TH, 2011, EE.UU.:

http://www.monsanto.ca/ourcommitments/Documents/TUG_English.pdf (documento en inglés)

Programa Refugio de la Asociación Semilleros Argentinos (Argentine Seed Association IRM Program):

<http://www.programarefugio.com/>

Programa de MRI de la EPA para el lote y maíz dulce Bt, 2006, US.:

http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/pips/bt_corn_refuge_2006.htm#program (documento en inglés)

Estrategia de MRI para el maíz Bt en las Filipinas. Dept. de Agricultura, Filipinas:

http://www.da.gov.ph/n_sub.php?pass=n_agrilaws/mc/MC_17s03.html

Estrategias para el MRI para el algodón en la India. India:

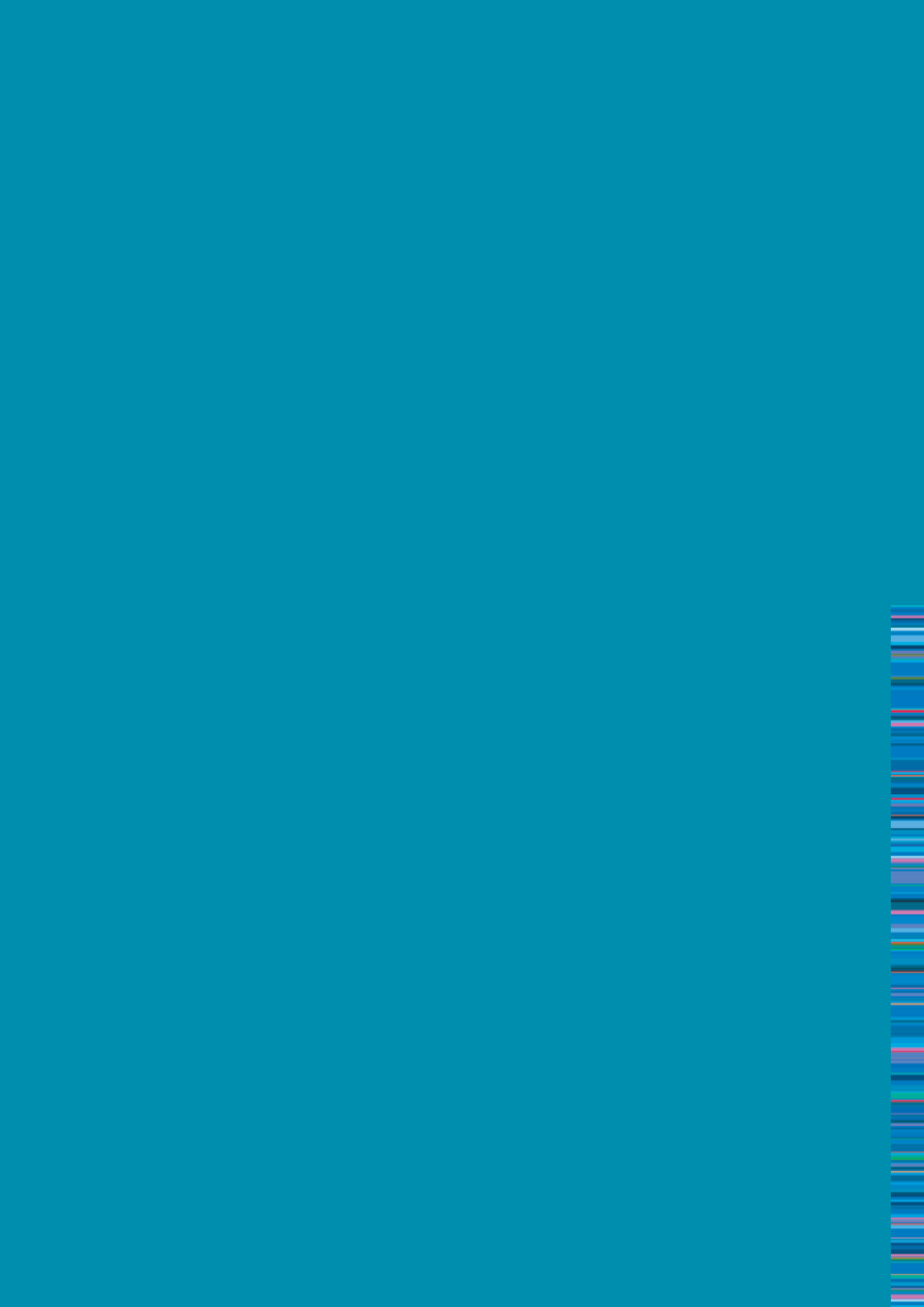
http://www.indiaagronet.com/indiaagronet/pest_management/CONTENTS/in_secticide_resistance_management.htm

Centro de aprendizaje sobre el MRI de la Asociación Nacional de Productores de Maíz (National Corn Growers Association's IRM learning center), EE.UU.:

<http://ncga.com/managing-bt-technology/> (documento en inglés)

Coalición canadiense contra las plagas del maíz (Canadian Corn Pest Coalition):

<http://www.cornpest.ca/> (en inglés)





CropLife International aisbl
326 Avenue Louise, Box 35
1050 Brussels
Belgium

tel +32 2 542 04 10
fax +32 2 542 04 19
croplife@croplife.org
www.croplife.org

Fecha de publicación: Febrero 2012