

# ANTIBIOSIS EN LA HOJA Y EN LA VAINA DEL MAÍZ Y SU RELACIÓN CON LA SELECCIÓN POR RESISTENCIA EN CAÑA A *Sesamia nonagrioides*

Malvar RA; Ordás B; Sandoya G; Santiago R; Butrón A  
Misión Biológica de Galicia. Consejo Superior de Investigaciones Científicas.  
Apartado 28. 36080 Pontevedra

## INTRODUCCIÓN

El taladro, *Sesamia nonagrioides*, es una de las principales plagas que atacan al maíz en los países mediterráneos (Cordero et al. 1998). Con el desarrollo de variedades de maíz *Bt*, en las que se ha introducido el gen de *Bacillus thuringiensis* responsable de sintetizar una proteína que tiene una propiedad insecticida, se creía haber encontrado la solución definitiva a las plagas. No obstante, ya se han detectado insectos resistentes a la toxina y por ello muchos autores (Tabashnik 1994, Huang et al. 1999, Andow et al. 2000) proponen como una solución más segura combinar la resistencia parcial encontrada en algunos genotipos de maíz con la resistencia del maíz *Bt*.

El compuesto EPS12, formado por cuatro variedades de la España seca sometidas a tres ciclos de selección recurrente por rendimiento (Vales et al. 2001), ha mostrado cierto grado de resistencia al ataque de *S. nonagrioides* (Malvar et al. 1993) y por ello se ha elegido como población base de un programa de mejora que tiene como finalidad mejorar la resistencia de la caña. El método utilizado es la selección recurrente intrapoblacional de familias  $S_1$  y el criterio de selección es familias con galerías pequeñas en la caña. Las mariposas depositan los huevos entre la vaina de la hoja y el tallo. Las larvas recién eclosionadas se alimentan de la vaina y penetran en el interior de la caña y, posteriormente las larvas se alimentan de la médula produciendo galerías. Por ello, la mejora de la resistencia de la caña se basa principalmente en reducir la longitud de las galerías producidas por el insecto.

No obstante, antes de entrar en las cañas, las larvas se alimentan de la hoja y de la vaina que envuelve al tallo. Se desconoce si el EPS12 muestra cierta resistencia en las hojas. Así, los objetivos del trabajo fueron conocer si las hojas y la vaina del EPS12 son resistentes al ataque de las larvas y si el grado de resistencia en hoja y en vaina ha variado con la selección por resistencia en caña.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La resistencia al ataque de *S. nonagrioides* de las hojas y vainas del EPS12 [EPS12(S) C0], de los tres ciclos de selección intrapoblacional de familias  $S_1$  para reducir la longitud de las galerías producidas por los insectos [EPS12(S) C1, EPS12(S) C2 y EPS12(S) C3], de un híbrido susceptible (INRA260) y de dos híbridos resistentes de maíz *Bt* desarrollados por Monsanto (MEBT31 y MEB470) se evaluó en diversos bioensayos. En los dos primeros, las larvas de *S. nonagrioides* se alimentaron con las hojas de los distintos genotipos, cuando las plantas todavía no habían encañado y en este estado suelen ser atacadas por las últimas larvas de la primera generación. En los dos siguientes ensayos, las plantas ya habían encañado y se evaluó la resistencia de la vaina, puesto que las larvas que atacan cuando las plantas inician el periodo reproductivo son larvas de la segunda generación. Los cuatro bioensayos fueron consecutivos para poder detectar cambios en el comportamiento frente a la plaga cuando aumenta la edad de la planta.

El material vegetal (hojas o vainas) se recogió de plantas sembradas en las parcelas de la Misión Biológica de Galicia el 10 de mayo del 2002. En cada bioensayo se

alimentaron, con material de cada variedad, 50 larvas de *S. nonagrioides* individualizados (divididas en dos grupos). La cría de las larvas se realizó como describe Eizaguirre (1989) y tenían aproximadamente una semana de edad cuando se comenzaron los bioensayos, que se desarrollaron en condiciones controladas a 26 °C de temperatura y con 14 horas de luz. Los bioensayos para valorar la resistencia en hoja se iniciaron el 11 y el 28 de junio y se mantuvieron hasta que las larvas comenzaron la pupación. Los de resistencia de la vaina se iniciaron el 1 y el 22 de agosto y se mantuvieron durante 15 días, porque en este caso después de tres semanas las larvas se introducen en la caña y se alimentan de la médula. El material vegetal se cambiaba cada tres o cuatro días y entonces se tomaba el número de larvas muertas y el peso de las mismas.

Para analizar los datos, se realizó un análisis de supervivencia de las larvas. Para ello, en cada variedad se calculó la función de supervivencia de Kaplan – Meier. Posteriormente, se utilizó el estadístico ‘log-rank’ para comparar las funciones de supervivencia de las larvas alimentadas con las distintas variedades. Se partió de la hipótesis nula de la homogeneidad de las curvas de supervivencia. Para lo que se utilizó el procedimiento LIFETEST de SAS (SAS 2000). Una descripción detallada del análisis de supervivencia puede verse en Cantor (1997). Además, para analizar el peso de las larvas y la mortalidad acumulada en cada toma de datos, se realizó una comparación de medias utilizando la mínima diferencia significativa protegida de Fisher. El peso de las larvas se corrigió con el peso inicial utilizando un análisis de covarianza.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las funciones de supervivencia de las larvas alimentadas con hojas o vainas de las distintas variedades fueron significativamente diferentes, ya que presentaron distintos valores de ‘log rank’ (Tabla 1). Los valores positivos del estadístico significan que el número de larvas muertas es superior al esperado si se cumpliera la hipótesis nula de que todas las funciones de supervivencia son equivalentes.

**Tabla 1.** Valores del estadístico log-rank para comparar la homogeneidad de las funciones de supervivencia de las larvas de *S. nonagrioides* alimentadas con las hojas o las vainas de diferentes variedades de maíz.

Variedad	Hoja		Vaina	
	1 <sup>er</sup> bioensayo	2 <sup>er</sup> bioensayo	1 <sup>er</sup> bioensayo	2 <sup>er</sup> bioensayo
MEBT31	24,9a	35,4a	32,2a	35,4a
MEB470	24,8a	33,8b	33,8a	31,0b
EPS12(S)C3	0,5b	-11,0c	-10,1bc	-28,2e
EPS12(S)C2	-13,1c	-17,8cd	-2,8b	-0,6c
EPS12(S)C1	-10,3bc	-8,8c	-24,2d	-15,7d
EPS12(S)C0	2,4b	-4,9c	-11,0bc	-6,5cd
INRA260	-29,2d	-26,7d	-17,8cd	-15,3d

En cada columna los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (P=0,05)

La mortalidad de las larvas que se alimentan de las hojas de los híbridos *Bt* es significativamente mayor que la mortalidad de las larvas alimentadas con las hojas de cualquier otra variedad (Tabla 2). En los bioensayos de hoja, el EPS12(S) C0 mostró un nivel de antibiosis significativamente más alto que el híbrido susceptible (INRA260), basándose en la mortalidad de las larvas (Tablas 1 y 2). Sin embargo estas diferencias no se detectaron en los bioensayos de vaina. Ello, indica que no existe una relación entre la resistencia en los primeros estadios de desarrollo de la planta y la resistencia cuando se completa el desarrollo. De hecho, se conoce que no existe relación entre la resistencia a la primera y a la segunda generación de *Ostrinia nubilalis* (Guthrie et al. 1989).

Por otra parte, la selección realizada en el EPS12 para mejorar la resistencia en caña, no parece incrementar la mortalidad de las larvas, ya que el 'long rank' del ciclo inicial y tercero no difieren significativamente. Esto indica, que no existe relación entre la resistencia en la hoja y la resistencia en caña. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Guthrie et al. (1989) al estudiar la resistencia a *Ostrinia nubilalis*, que es también un taladro del maíz, que produce daños semejantes a los producidos por las larvas de *S. nonagrioides*.

**Tabla 2.** Mortalidad media en los bioensayos de hoja y vaina y media de los pesos (Pi) de las larvas de *S. nonagrioides* alimentadas con la vaina en diferentes fechas espaciadas entre sí por cuatro días (P1 a P4) y ajustados por el peso inicial de la larva

Variedad	Mortalidad (%)		P1 (g)	P2 (g)	P3 (g)	P4 (g)
	Hoja	Vaina				
MEBT31	100a	100a	0,002c	0,000c	-	-
MEB470	100a	99a	0,002c	0,000c	-	-
EPS12C3	76b	23d	0,022a	0,034a	0,081a	0,115a
EPS12C2	56c	55b	0,020ab	0,030ab	0,070ab	0,108a
EPS12C1	64bc	25d	0,023a	0,032ab	0,072a	0,100ab
EPS12C0	78b	43bc	0,019b	0,029b	0,055b	0,079b
INRA260	36d	41cd	0,031ab	0,076a	0,112a	0,112a

En cada columna los valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (P=0,05)

Las larvas que se alimentaron con hojas de las variedades no transgénicas no difirieron significativamente en peso en ninguno de las nueve pesadas que se hicieron cada cuatro días (no se muestran los datos). En este material, la antibiosis en hoja se relaciona con una disminución de la viabilidad de las larvas y no con una disminución del peso. Por el contrario, en los bioensayos de vaina se observa que las larvas del ES12(S)C0 crecen menos que las del testigo susceptible, pero el peso de las larvas alimentadas con vainas de éste no difiere significativamente de ninguno de los ciclos de selección.

En conclusión la antibiosis de maíz *Bt* es total tanto en hoja como vaina. El EPSC(S)C0 mostró cierta resistencia tanto en vaina como en hoja, pero ésta no se utilizó durante el proceso de selección para resistencia en caña. Por lo tanto, la antibiosis detectada en las hojas y las vainas, aunque esté presente, no parece tener ninguna relación con la resistencia en caña.

## AGRADECIMIENTOS

La investigación se enmarca dentro de los proyectos del Plan Nacional de I+D AGL2000-0944 y AGL2003-0961

## REFERENCIAS

- Andow, D.A., Olson, D.M., Hellmich, R.L., Alstad, D.N., Hutchison, W.D. 2000. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab in an Iowa population of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J. Econ. Entomol.* 93: 26-30.
- Cantor, A. 1997. Extending SAS survival analysis. Techniques for medical research. SAS Institute, Cary, NC.
- Cordero, A., Malvar, R.A., Butrón, A., Revilla, P., Velasco, P., Ordás, A. 1998. Population dynamics and life-cycle of corn borers in south Atlantic European coast. *Maydica* 43: 5-12.
- Eizaguirre, M. 1989. Inducción de la diapausa en *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae) y su papel en el ciclo biológico de las comarcas de Lérida. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cataluña, España.
- Guthrie, W.D., Hawk, J.A., Jarvis, J.L. 1989. Performance of maize inbred line DE811 in hybrid combinations: resistance to first and second generation European corn borers (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 82: 1804-1806.
- Huang, F., Buschman, L.L., Higgins, R.A., McGaughey, W.H. 1999. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European corn borer. *Science* 284: 965-967.
- Malvar, R.A., Cartea, M.E., Revilla, P., Ordás, A., Álvarez, A., Mansilla J.P. 1993. Sources of resistance to pink stem borer and European corn borer in maize. *Maydica* 38: 313-319.
- SAS Institute, Inc., 2000: SAS OnlineDoc, version 8. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Tabashnik, B.E. 1994: Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 22-23.
- Vales, M.I., Malvar, R.A., Revilla, P., Ordás, A., 2001. Recurrent selection for grain yield in two Spanish maize synthetic populations. *Crop Sci.* 41: 15-19.