

## AVALIAÇÃO DO CUSTO ADAPTATIVO DE POPULAÇÕES HETEROZIGOTAS DE *Spodoptera frugiperda* EM MILHO *Bt*

FABRÍCIO BARCELOS MOTTA<sup>1</sup>; INDYRA FARIA DE CARVALHO<sup>2</sup>, DANIEL BERNARDI<sup>3</sup>, ANA PAULA SCHNEID AFONSO DA ROSA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade federal de Pelotas - [fabricio.b.motta@hotmail.com](mailto:fabricio.b.motta@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade federal de Pelotas - [indyrafaria@gmail.com](mailto:indyrafaria@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade federal de Pelotas – [dbernardi2004@yahoo.com.br](mailto:dbernardi2004@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Embrapa Clima Temperado - [ana.afonso@embrapa.br](mailto:ana.afonso@embrapa.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) é considerada a principal praga da cultura do milho (*Zea mays*) no Brasil. Seu ataque na planta ocorre desde a emergência até opendoamento e enchimento de grãos. O impacto econômico dessa praga é alto e as perdas nas lavouras infestadas costumam variar de 15% a 35% da produção e em condições favoráveis ao seu desenvolvimento pode chegar a 100% (CRUZ, 1995).

A principal forma de controle é via inseticidas químicos e mais recentemente via plantas geneticamente modificadas (GM) expressando proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* Berliner conhecidas como plantas *Bt* (BERNARDI et al., 2015). No entanto, devido à alta capacidade adaptativa e à elevada pressão de seleção sobre a espécie durante o ciclo vegetativo da planta existem casos de resistência associados à espécie, como em Porto Rico ao evento TC1507(STORER et al., 2012), no Brasil e nos EUA, a proteínas Cry1F (FARIAS et al., 2014), Cry1A.105/Cry2Ab2 e Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F (SANTOS-AMAYA et al., 2015), representando uma ameaça para o uso da tecnologia a longo prazo.

A adoção do refúgio ainda é a forma mais eficiente de manejo disponível, pois a resistência às proteínas Cry em *S. frugiperda* é autossômica e recessiva (rr) (STORER et al., 2010), ou seja, somente se manifesta se existirem dois genes recessivos expressos. Em áreas em que o refúgio é devidamente estabelecido, o cruzamento entre indivíduos homozigotos suscetíveis (SS) resulta em indivíduos heterozigotos (rS) que são eficientemente controlados pelas toxinas, diluindo a frequência de alelos resistentes (TABASHNIK et al., 2013).

No entanto, em casos em que a frequência inicial de alelos resistentes é alta, indivíduos (rr) são capazes de se beneficiar da estratégia de refúgio, e inclusive aumentar em número comparado a indivíduos suscetíveis (CRESPO et al., 2009). Isso ocorre, porque não há custo adaptativo associado a resistência a proteínas Cry, ou seja, populações resistentes são capazes de sobreviver e se reproduzirem sem diferenças significativas em ambientes sem toxina Bt, resultando em falhas no manejo da resistência (JAKKA et al., 2014).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar o custo adaptativo de uma população heterozigota de *S. frugiperda* alimentadas com milho *Bt* em condições de laboratório.

## 2. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Núcleo de Bioeficiência da Embrapa Clima Temperado em salas climatizadas (Temperatura  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de Umidade Relativa e fotofase de 12 horas). Para o estudo, foram utilizados como hospedeiros milho isolinha não *Bt*, os milhos *Bt* expressão os eventos MON89034 (Cry1A.105+Cry2Ab2) e MON89034 x TC 1507 (Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F). Para os bioensaios, 160 lagartas recém eclovidas ( $\leq 24$  horas de idade) de uma população heterozigota oriundas do cruzamento de indivíduos suscetíveis e resistentes (SUS♀+ MON 89034 ♂) foram individualizadas em placas de plástico (16 células por placa), sobre uma camada de ágar: água (0,1%), contendo papel filtro para retenção da umidade e tiras de folhas do alimento testado em cada tratamento ( $2 \times 5 \text{ cm}^2$ ) (MON 89034 e MON 89034 x TC 1507). O alimento foi trocado diariamente e os seguintes parâmetros foram avaliados: período de incubação de ovos (dias), duração do período larval e pupal, peso de machos e fêmeas, razão sexual, longevidade de adultos, período de pré-oviposição e fecundidade específica e total.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os dados apresentados na Tabela 1, a população de *Spodoptera frugiperda* oriunda do cruzamento de fêmeas suscetíveis às proteínas *Bt* e machos resistentes à proteína Cry1A.105/Cry2Ab2 para a fase de ovo o período foi de 3,7 dias quando a população foi alimentada com milho não *Bt*, já para os insetos alimentados com milho *Bt* expressando as proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 e Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F não houve duração da fase, pois quando o alimento foi milho Cry1A.105/Cry2Ab2, embora a fecundidade total tenha sido de 595 ovos, não houve a eclosão de lagartas, a viabilidade foi zero e, para os insetos alimentados com milho Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F, não foram originadas fêmeas viáveis na população.

Para o período larval observou-se que houve um prolongamento do período, tanto para os insetos alimentados com milho não *Bt*, quanto para milho expressando Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F, já para milho expressando Cry1A.105/Cry2Ab2 o período larval foi de apenas 5 dias, evidenciando que não houve custo adaptativo relacionado a resistência (rr e rs), cuja característica é a prolongação do período larval em decorrência ao modo de ação do *Bt*, que altera a fisiologia do trato intestinal influenciando a digestão e reserva de nutrientes nesta fase (WANG et al., 2016). Na fase de pupa observou-se o mesmo comportamento larval, no entanto, sem a formação de fêmeas, somente machos na população, quando alimentadas com milho Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F e com peso semelhante, independentemente do alimento ingerido. O maior número de fêmeas observado foi para a população alimentada com milho não *Bt*, levando a inferir que, mesmo sem custo adaptativo, houve redução no número de fêmeas na população heterozigota em decorrência da ingestão de milho expressando a proteína Cry1A.105/Cry2Ab2. No entanto, em estudo conduzido por WAQUIL et al. (2016), os autores verificaram que o consumo de plantas que expressam proteínas *Bt* não afeta a sobrevivência dos insetos em função do sexo. Para os adultos observou-se pouca influência do alimento ingerido na fase larval.

Com base nos resultados é possível verificar a importância do estudo de indivíduos heterozigotos frente as proteínas *Bt*, pois a evolução dos indivíduos aos membros da família Cry1 ameaça o uso continuo dessa tecnologia para *S. frugiperda* e, consequentemente os programas de Manejo de Resistencia de Insetos (MRI).

Tabela 1. Parâmetros biológicos de uma população heterozigota de *Spodoptera frugiperda* alimentada com milho não *Bt* e com MON 89034 e MON 89034xTC 1507 em laboratório.

| Fases          | Variáveis                   | Hospedeiros            |                                  |  |
|----------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------------|--|
|                |                             | Isolinha não <i>Bt</i> | MON 89034<br>(Cry1A.105/Cry2Ab2) | MON 89034xTC 1507<br>(Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F) |
| <b>Ovo</b>     | Período de incubação (dias) | 3,7 ± 0,21             | 0,0 ± 0,00                       | 0,0 ± 0,00                                     |
|                | Viabilidade (%)             | 83,44                  | 0                                | 0  |
| <b>Lagarta</b> | Duração (dias)              | 21,59 ± 0,17           | 5,77 ± 0,80                      | 33,00 ± 1,69                                   |
|                | Viabilidade (%)             | 65                     | 43,125                           | 15   |
| <b>Pupa</b>    | Duração (dias)              | 11,73 ± 0,12           | 7,50 ± 0,40                      | 11,00 ± 0,00                                   |
|                | Peso ♀ (g)                  | 0,13 ± 0,002           | 0,11 ± 0,000                     | 0,00 ± 0,000                                   |
|                | Peso ♂ (g)                  | 0,14 ± 0,021           | 0,13 ± 0,006                     | 0,15 ± 0,011                                   |
|                | Razão Sexual                | 0,49                   | 0,25                             | 0  |
|                | Viabilidade (%)             | 77,88                  | 4,34                             | 8,33   |
| <b>Adulto</b>  | Duração (dias)              | 15,97 ± 1,06           | 18,60 ± 0,54                     | 00,0 ± 0,00                                    |
|                | Longevidade ♀ (dias)        | 16,61 ± 1,25           | 20,00 ± 0,00                     | 0,00 ± 0,00                                    |
|                | Longevidade ♂ (dias)        | 15,33 ± 4,89           | 18,00 ± 0,00                     | 15,50 ± 1,76                                   |
|                | Pré-oviposição (dias)       | 4,47 ± 1,36            | 1,0 ± 0,00                       | 0,0 ± 0,00                                     |
|                | Fecundidade Específica      | 107,7 ± 36,39          | 74,38 ± 30,56                    | 00,0 ± 0,00                                    |
|                | Fecundidade Total           | 846,0 ± 50,73          | 595,0 ± 00,00                    | 00,0 ± 0,00                                    |

#### 4. CONCLUSÕES

A população heterozigota de *Spodoptera frugiperda* não apresenta custo adaptativo quando alimentada com o milho MON 89034 (Cry1A.105/Cry2Ab2), mas quando alimentada com o evento MON 89034xTC 1507 (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F) apresenta custo, com prejuízo ao ciclo de desenvolvimento.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. ; OMOTO, C. Cross-Resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. *Plos One*, v. 10, p. e0140130, 2015.

CRESPO, A. L. B; SPENCER, T. A.; ALVES, A. P.; HELLMICH, R. L.; BLANKENSHIP, E. E.; MAGALHÃES, L. C.; SIEGFRIED, B. D. On-plant survival and

inheritance of resistance to Cry1Ab toxin from *Bacillus thuringiensis* in a field-derived strain of European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Pest Management Science**, Sussex, v. 65, n. 10, p. 1071–1081, 2009.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995. 45 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 21).

FARIAS, J. R.; ANDOW, D.; HORIKOSHI, J.R.; SORGATTO, J.R. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, Nebraska, v. 64, n.1, p. 150–158, 2014.

JAKKA, S. R. K.; KNIGHT, V. R.; JURAT-FUENTES, J. L. Fitness Costs Associated With Field-Evolved Resistance to Bt Maize in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 107, n. 1, p. 342–351, 2014.

STORER, N. P.; KUBISZAK, M.; KING, E.; THOMPSON.D.G. Status of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: lessons from Puerto Rico. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 110, n. 3, p. 294–300, 2012.

SANTOS-AMAYA, O. F.; RODRIGUES, J. V.; SOUZA, T. C.; TAVARES, C. S.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N.; PEREIRA; E. J. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific Reports**, v. 5, 2015.

TABASHNIK, B. E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, Arizona, v. 31, n. 6, p. 510–521, 2013.

WANG, R.; TETREAU, G.; WANG, P. Effect of crop plants on fitness costs associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Ac and Cry2Ab in cabbage loopers. **Scientific Reports**, Geneva, v. 6, 2016.

WAQUIL, M. S.; PEREIRA, E. J. G.; CARVALHO, S. S. DE S.; PITTA, R. M.; WAQUIL, J. M.; Mendes, S. M. Índice de adaptação e tempo letal da lagarta-do-cartucho em milho Bt. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 563–570, 2016.