



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb

entomologia\_ufgd

## EFEITOS DA PIRAMIDAÇÃO DE PROTEÍNAS INSETICIDAS EM HÍBRIDOS DE MILHO NO DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda*

(J.E. SMITH, 1797)

ARAÚJO, Livia Almeida<sup>1</sup>; SILVA, Anderson José<sup>2</sup>; SILVA, Ivana Fernandes<sup>3</sup>; FERNANDES, Marcos Gino<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Graduanda em Biotecnologia. Universidade Federal da Grande Dourados. almeidativiaa20@gmail.com;

<sup>2</sup> Doutor em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Universidade Federal da Grande Dourados;

<sup>3</sup> Pós Doutoranda em Entomologia e Conservação da Biodiversidade. Universidade Federal da Grande Dourados;

<sup>4</sup> Professor Doutor em Entomologia Agrícola. Universidade Federal da Grande Dourados.

### RESUMO

O milho (*Zea mays*) geneticamente modificado com gene de *Bacillus thuringiensis* (Bt) é a cultura mais cultivada no mundo, mas a evolução da resistência dos insetos-praga a essa tecnologia é um obstáculo. Nesse contexto, a técnica da piramidação de genes, que combina duas ou mais proteínas Bt, tem se mostrado eficaz para retardar esse processo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de diferentes híbridos de milho, com e sem a piramidação de proteínas inseticidas, contra a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). Para isso, foram utilizados cinco híbridos: um convencional (BG 7049 C.V.) e quatro biotecnológicos, expressando diferentes quantidades de proteínas, incluindo aqueles com piramidação de genes (NS50 PRO2 e B2401 PWU), avaliando-se a duração larval, o tamanho das pupas e o fator de resistência. Os principais resultados indicaram que os tratamentos NS50 PRO2 e B2401 PWU resultaram na menor duração larval em dias e, nos híbridos com duas, três e quatro proteínas piramidadas, nenhuma lagarta conseguiu atingir a fase de pupa, evidenciando um forte efeito letal. Adicionalmente, os híbridos NS50 PRO2 e B2401 PWU apresentaram o maior fator de resistência às lagartas de *S. frugiperda*. Conclui-se que a piramidação de proteínas inseticidas é uma técnica efetiva para o manejo da lagarta-do-cartucho, retardando a evolução da resistência da praga, sendo uma tecnologia promissora, especialmente quando integrada a outras práticas do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bacillus thuringiensis*; Lagarta-do-cartucho; Milho Bt;

### INTRODUÇÃO

Após duas décadas de legalização e comercialização de culturas transgênicas no Brasil, observam-se muitos benefícios em diversos setores, principalmente na preservação do meio ambiente, uma vez que as plantas transgênicas diminuem a aplicação de defensivos agrícolas para o controle de pragas das principais culturas do país. O milho (*Zea mays*), por sua vez, se destacou como a maior cultura agrícola mundial, com impacto significativo na área cultivada globalmente. A tecnologia do milho geneticamente modificado com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) é amplamente adotada pelo seu manejo de pragas. Visto que, ao esporular, a bactéria Bt forma cristais proteicos (Cry) que têm ação inseticida, a adoção desses híbridos transgênicos aumenta a durabilidade da cultivar, melhora a qualidade dos grãos e favorece o controle de pragas.


Entretanto, a eficácia dessa tecnologia enfrenta um desafio constante: a rápida evolução de resistência por parte de insetos-praga. A lagarta-do-cartucho-do-milho,



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb 

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), é o principal exemplo de praga que desenvolveu resistência a híbridos que expressam apenas uma proteína Bt. Considerando que a evolução de resistência é um fenômeno rápido, surgiu a necessidade da piramidação genética — tecnologia que combina duas ou mais proteínas Bt de diferentes classes (como Cry e Vip3) para prolongar a durabilidade da tecnologia. Essa estratégia permite que indivíduos resistentes a uma proteína sejam controlados pela outra, retardando o processo de resistência. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da piramidação de genes inseticidas e a resistência de diferentes híbridos de milho, utilizados no Mato Grosso do Sul, às lagartas de *S. frugiperda*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Obtenção e semeadura dos híbridos

Foram utilizados cinco híbridos de milho: um convencional e quatro biotecnológicos, expressando diferentes proteínas inseticidas, isoladas ou piramidadas. O híbrido convencional serviu como tratamento testemunha..

**Tabela 1.** Híbridos de milho usados no experimento.

Híbridos	Titularidade de registro	Proteína
BG 7049	BioGene®	Cultivar convencional
BG 7542 H	BioGene®	Cry1F
SUPREMO VIP	Syngenta®	Vip3Aa20
NS50 PRO 2	Nydera Sementes®	Cry1A.105+Cry2Ab2
B 2401 PWU	Brevant™	Cry1F+Vip3Aa20+Cry1A.105+Cry2Ab2

As sementes (seis por vaso) foram plantadas em recipientes de 5 litros com substrato, solo e composto orgânico (proporções: 1:3:1). Dez dias após a emergência, manteve-se apenas três plântulas por vaso, totalizando 15 plantas por híbrido. O cultivo foi feito sem aplicação de inseticidas, sob condições naturais.

### Procedência das Lagartas



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

[www.even3.com.br/vieecb](http://www.even3.com.br/vieecb)

 entomologia\_ufgd

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas vieram de criação de laboratório, sob condições controladas de temperatura ( $25\pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70\%\pm 10\%$ ) e fotoperíodo (12 horas), mantidas inicialmente em meio artificial.

## Bioensaios:

### Efeito na biologia das lagartas:

Folhas dos cultivares (a partir do quarto estágio vegetativo) foram oferecidas diariamente a lagartas neonatas individualizadas. Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração da fase larval e tamanho das pupas.

### Resistência das plantas (Fator de Resistência)

O Fator de Resistência inferiu o grau de resistência das lagartas à tecnologia Bt. Foram utilizadas 20 repetições por híbrido, cada uma com apenas uma lagarta de *S. frugiperda*. Lagartas que morreram durante o período da análise foram substituídas. O número de lagartas substituídas indicou o grau de resistência da tecnologia Bt às lagartas: quanto maior o número de substituições, maior a eficácia da toxina.

### Análise Estatística

Os dados de período larval, tamanho das pupas e Fator de Resistência passaram pela análise de variância e teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade usando o programa Assistat 7.7 (2017).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos indicam que o ciclo larval de *S. frugiperda* foi negativamente afetado pela biotecnologia Bt, sendo a piramidação de proteínas fundamental no manejo da praga. Os tratamentos com duas (NS50 PRO 2) e quatro (B 2401 PWU) proteínas piramidadas apresentaram a menor duração larval em dias, indicando um rápido e eficaz controle da praga, enquanto não houve diferença significativa na duração larval entre o híbrido convencional e aqueles com menor piramidação.



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb

Além disso, em relação ao desenvolvimento da praga, verificou-se um forte efeito letal nos híbridos com piramidação: nos tratamentos com duas (NS50 PRO 2 e SUPREMO VIP) e quatro proteínas (B 2401 PWU), nenhuma lagarta conseguiu atingir a fase de pupa, demonstrando 100% de interrupção do ciclo de vida. Já no tratamento com apenas uma proteína (BG 7542 H), o tamanho das pupas foi menor que o do híbrido convencional, o que sugere um efeito subletal.

O Fator de Resistência confirmou a eficácia das tecnologias combinadas, sendo maior nos híbridos com piramidação de proteínas. Os híbridos NS 50 PRO 2 e B 2401 PWU apresentaram os maiores fatores de resistência (Tabela 2), ou seja, foram os que mais exigiram reposição de lagartas devido à alta mortalidade causada pela toxina, evidenciando a letalidade dessas tecnologias.

**Tabela 2** - Efeito da piramidação de proteínas inseticidas.

Híbrido	Número de proteínas	Duração larval (dias)	Tamanho das pupas (mm)	Lagartas acrescentadas	Resistência
BG 7049 (C.V)	0	14.9±0.23 a	20.28±1.18 a	00 d	1.00 d
BG 7542 H	1	16.50±0.43 a	8.87±1.72 b	36.02 c	1.80 c
SUPREMO VIP	2	14.75±1.23 a	–	64.14 b	3.20 b
NS50 PRO 2	2	11.65±0.22 b	–	93.05 a	4.65 a
B 2401 PWU	4	11.90±0.10 b	–	97.08 a	4.85 a

\* Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O alto fator de resistência e a interrupção do ciclo de vida reforçam a eficácia da piramidação na estratégia de manejo da resistência. A tecnologia é projetada para controlar indivíduos resistentes a uma proteína, uma vez que a lagarta ainda será suscetível à outra proteína combinada. O efeito letal observado, especialmente nos híbridos com combinação de toxinas Cry e Vip3Aa20, corrobora estudos anteriores, como o de Moscardini et al. (2020), que apontam essa piramidação como uma estratégia efetiva. A importância da proteína Vip3Aa20 reside no fato de possuir um sítio de ligação diferente das proteínas Cry1 e Cry2, conferindo-lhe eficácia mesmo contra populações de lagartas que já desenvolveram resistência aos grupos Cry. Em suma, a menor duração



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

[www.even3.com.br/vieecb](http://www.even3.com.br/vieecb)

 [entomologia\\_ufgd](https://www.instagram.com/entomologia_ufgd)

larval e a ausência de pupas nos híbridos piramidados indicam que a combinação de diferentes grupos de proteínas é a melhor abordagem para o controle de *S. frugiperda*. Contudo, a adoção da biotecnologia, por si só, não garante a sustentabilidade a longo prazo. Portanto, a piramidação de genes, deve ser integrada a outras táticas dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP), incluindo a rotação de culturas, o monitoramento populacional e o uso de refúgios, para retardar a evolução da resistência.

## CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho indicam que o ciclo larval de *S. frugiperda* é negativamente afetado pelos híbridos de milho, especialmente aqueles que contam com a piramidação de proteínas. Foi verificado que os híbridos com duas ou mais proteínas (SUPREMO VIP, NS50 PRO 2 e B 2401 PWU) demonstraram o maior fator de resistência e impediram a formação de pupas, conferindo, assim, maior resistência à planta e um forte efeito letal na praga. A alta mortalidade obtida é um resultado desejável tanto para o controle quanto para o manejo da resistência, sustentando a piramidação de proteínas como uma técnica efetiva para prolongar a eficácia da tecnologia Bt. Portanto, é fundamental priorizar híbridos que combinem duas ou mais proteínas de diferentes grupos (Cry1, Cry2, Vip3A) e integrá-los de forma estratégica com outras táticas do MIP, como a rotação de proteínas e o monitoramento, visando retardar a evolução da resistência e garantir a sustentabilidade da produção de milho.

## REFERÊNCIAS

- Baranek, J., et al. 2017. Interaction between toxin crystals and vegetative insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* in lepidopteran larvae. *BioControl*, v. 62, n. 5, pp. 649–658.
- Bashir, O., et al. 2016. Controlled-release of *Bacillus thuringiensis* formulations encapsulated in lightresistant colloidosomal microcapsules for the management of lepidopteran pests of Brassica crops. *PeerJ*, v. 2016, n. 10.
- Fancelli, A. L., et al. 2000. Produção de milho. Guaíba: Agropecuária, v. 1, p. 360.
- Gayen, S. et al. 2015. A deletion mutant ndv200 of the *Bacillus thuringiensis* vip3BR insecticidal toxin gene is a prospective candidate for the next generation of genetically modified crop plants resistant to lepidopteran insect damage. *Planta*, v. 242, n. 1, p. 269–281.
- Greene, G. L., 1976. Velvetbean Caterpillar: A Rearing Procedure and Artificial Medium. *Journal of Economic Entomology*, v. 69, n. 4, p. 487–488.



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

[www.even3.com.br/vieecb](http://www.even3.com.br/vieecb)



Moscardini, V. F., et al. 2020. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize expressing Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2 and Vip3Aa20 proteins to manage the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Protection*, v. 137.

Shehryar, K. et al. 2020. Transgene Stacking as Effective Tool for Enhanced Disease Resistance in Plants. *Molecular Biotechnology*, v. 62, n. 1, p. 1–12.