



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb 

## EFEITOS DA PIRAMIDAÇÃO DE PROTEÍNAS INSETICIDAS EM HÍBRIDOS DE MILHO SOBRE A PREFERÊNCIA DE OVIPOSIÇÃO 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. livia.araujo088@academico.ufgd.edu.br;

<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

A cultura do milho (*Zea mays* L.) ocupa o segundo lugar entre as mais produzidas no país e é uma das mais prejudicadas pela ação das pragas (Bt). A fim de controlar tais perdas, criou-se o milho "Bt", um híbrido que contém genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* que possuem efeito inseticida. Entretanto, algumas populações de pragas, como a *Spodoptera frugiperda*, já desenvolveram resistência a tal tecnologia. Para evitar isto, utilizamos a técnica de piramidação, combatendo pragas resistentes a diferentes proteínas. Porém, o efeito de tal tecnologia pode não apenas ser letal, mas também afetar o ciclo de vida e comportamento das sobreviventes. No presente estudo, o parâmetro avaliado foi o número médio de posturas por planta, a fim de identificar qual estrutura é mais atrativa para a oviposição das lagartas de *S. frugiperda*. Utilizou-se híbridos comercializados, com as seguintes especificações: BG7049 C.V. (sem expressão de proteína Bt), BG 7542 H (Cry1F), NS50 PRO2 (Cry1A.105+Cry2Ab2), B2401 PWU (Cry1F+Cry1A.105+Cry2Ab2 e Vip3Aa20) e SUPREMO VIP (VIP3Aa20). Os resultados mostraram que a planta onde mais houveram posturas de modo geral foi a convencional, onde não haviam proteínas inseticidas. Tais dados são importantes para o entendimento da preferência dos locais de postura e pode auxiliar estudos futuros sobre a eficácia das estratégias de controle.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bacillus thuringiensis*; Milho Bt; Resistência.

### INTRODUÇÃO

O cultivo do milho (*Zea mays* L.) é uma das bases do agronegócio moderno, se destacando como a segunda maior cultura na agricultura brasileira. No entanto, com o aumento das áreas de cultivo, houve também o aumento dos prejuízos anuais causados pelo complexo de pragas que atacam as plantações do mesmo, trazendo um prejuízo de cerca de 2 bilhões de reais por ano, só no Brasil (WORDELL, *et al.*, 2016).

Com o intuito de promover o controle dessas pragas, em 2007 foi aprovado o primeiro milho geneticamente modificado, onde foi introduzido o gene da bactéria



# 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

*Bacillus thuringiensis* (Bt), que possui uma proteína que promove a ruptura osmótica das células epiteliais do trato digestivo quando ingerido pela praga, causando sua morte (Höfte, et al., 1989). Esta tecnologia contribui com a redução do número de aplicações de inseticidas, a diminuição do prejuízo nas culturas e conseqüentemente no aumento no lucro final de produção. Nos híbridos, pode-se expressar dois tipos de proteína: Cry e Vip, que não compartilham o mesmo sítio ligante, ou seja, não competem entre si. Ambas possuem um modo de ação parecido e a junção de ambas numa mesma planta pode maximizar a quantidade de pragas que os mesmos podem combater. Tal junção é denominada Piramidação e é capaz de combater a principal ameaça à sustentabilidade das plantas Bt, a capacidade de evolução de resistência dos insetos à toxina (Bernardi *et al.*, 2016).

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), se destaca como principal praga de lavouras de milho. O inseto causa danos em todas as fases de desenvolvimento da cultura. As fêmeas adultas da espécie são capazes de localizar a planta hospedeira para oviposição através de receptores químicos (NASCIMENTO, *et al.*, 2020). Entretanto, é necessário saber se as mariposas são capazes de discriminar as diversas variedades e se as mesmas exibem preferência de oviposição em algum dos híbridos. Portanto, o objetivo deste trabalho é verificar se há preferência de oviposição em mariposas de *S. frugiperda* em diferentes estruturas vegetativas e reprodutivas de milho convencional (não Bt) e os que contêm proteínas Bt.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos sob condições controladas com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70\% \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12:12 (L:D).

### Obtenção e semeadura dos híbridos de milho

Foram utilizados cinco híbridos comerciais, sendo um convencional (tratamento testemunha) e quatro biotecnológicos (Tabela 1).

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



# 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

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

A semeadura foi realizada previamente, em vasos plásticos com capacidade de 5 litros preenchidos com substrato, solo e composto orgânico (proporções: 1:3:1). Cerca de 10 dias após a emergência, foi feito o desbaste das plântulas, mantendo apenas três plantas por vaso, contendo um total de 15 plantas de cada híbrido. As plantas foram cultivadas sob condições recomendadas: em temperatura, umidade e luminosidade naturais, livres da infestação de insetos e aplicação de produtos químicos (FANCELLI, *et al.*, 2000).

## Procedência das lagartas utilizadas

Inicialmente, adquiriu-se posturas de *S. frugiperda* de um fornecedor comercial (Koppert Biological Systems®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Após a eclosão das larvas, as mesmas foram mantidas em meio artificial, seguindo os métodos de Greene (1976), com adaptações para as condições. Para garantir a continuidade da prole, os adultos foram acondicionados em pares (machos e fêmeas) e mantidos em gaiolas.

## Bioensaio

Utilizou-se 10 plantas de cada híbrido (Bt e não Bt), todas em estágio reprodutivo (R1). Durante o bioensaio, os vasos foram transportados para o laboratório e foram dispostos de forma equidistante, agrupados em 10 repetições, cada uma delas com um exemplar de cada uma das 4 variedades transgênicas e um exemplar sem a tecnologia Bt. As repetições (arenas) foram cobertas com tecido voil, em cada repetição liberou-se três casais, onde permaneceram por 72 horas. Após esse período, avaliou-se a preferência de



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb 

oviposição em cada estrutura vegetativa e reprodutiva da planta (folha, pendão, espiga e caule).

## Análise estatística

Para a verificação de normalidade dos dados, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando o programa Assistat, versão 7.7 (2017).

## RESULTADOS

Ao analisar o número de posturas em cada repetição, verificou-se que a maior quantidade de ovos foi encontrada no híbrido convencional, BG 7049 (0 proteínas), com uma média de  $0,70 \pm 0,26$  em todas as estruturas avaliadas (Tabela 2). Entre os híbridos biotecnológicos, constatou-se maior número de ovos no SUPREMO VIP (VIP3Aa20), que expressa apenas uma proteína, com média de  $0,20 \pm 0,13$ . Em compensação, o híbrido NS50 PRO2, que expressa duas proteínas, não apresentou posturas em nenhuma das suas estruturas ( $0,00 \pm 0,00$ ), sendo estatisticamente semelhante (letra 'aB') aos híbridos BG 7542 H e B 2401 PWU. De modo geral, tais dados verificam que houve uma diferença significativa na quantidade de posturas entre as plantas Bt e não Bt no momento da oviposição, com o milho convencional sendo o preferido.

**Tabela 2. Número médio de posturas por híbrido de milho.**

Híbridos	Oviposição	Número de proteínas
BG 7049	$0.70 \pm 0.26$ aA	0
BG 7542 H	$0.10 \pm 0.10$ aB	1
SUPREMO VIP	$0.20 \pm 0.13$ aAB	1
NS50 PRO 2	$0.00$ aB	2
B 2401 PWU	$0.10 \pm 0.10$ aB	4

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

## CONCLUSÕES



# VI ENCONTRO DE ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Insetos sustentando a vida na Terra

www.even3.com.br/vieecb 

Os resultados da pesquisa demonstram que, embora não haja consenso sobre os fatores de escolha de hospedeira para a oviposição *S. frugiperda*, houve uma preferência significativa pela planta convencional (não Bt), em comparação com todos os híbridos transgênicos. Este achado sugere que a presença de proteínas inseticidas Bt exerce um efeito repelente sobre as mariposas fêmeas, indicando que elas podem estar avaliando ativamente o risco de mortalidade para a prole antes da postura. Em particular, a observação de que o híbrido NS50 PRO2 (2 proteínas) não registrou posturas reforça a relevância da piramidação de proteínas. Essa estratégia não se limita à maior letalidade contra as larvas resistentes, mas também atua como um inibidor da oviposição em campo. Tais descobertas são cruciais para o desenvolvimento de estratégias integradas de manejo, fornecendo subsídios para otimizar a eficácia do controle biotecnológico, ao mesmo tempo em que contribuem significativamente para retardar a evolução da resistência da praga.

## REFERÊNCIAS

- Bernardi, O. *et al.* 2016. Manejo da Resistência de Insetos-Praga a Plantas Bt. 1. ed. Engenheiro Coelho - SP: PROMIP.
- Fancelli, A. L., *et al.* 2000. Produção de milho. Guaíba: Agropecuária, v. 1, p. 360.
- He, *et al.* 2021. Population life tables for the invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* fed on major oil crops planted in China. *Journal of Integrative Agriculture*. v.20(3) p. 745–754.
- Höfte, H., *et al.* 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*, v. 53, n. 2, p. 242–255, jun.
- Nascimento, P. T. *et al.* 2020. Does Singular and Stacked Corn Affect Choice Behavior for Oviposition and Feed in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)? *Neotropical Entomology*, v. 49, n. 2, p. 302–310, 22 abr.
- Wordell, J. A. F. 2016. Pragas e doenças do milho: Diagnose, danos e estratégias de manejo. Boletim técnico N° 170, EPAGRI.