

## EFEITOS DE *Bacillus thuringiensis* (CRY1AC) NA ATIVIDADE DO VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR DE *Spodoptera frugiperda*

WISCH, L. N.<sup>1</sup>; CORY, J.<sup>2</sup>; OLIVEIRA, M. C. N. de<sup>3</sup>; SOSA-GÓMEZ, D. R.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Ponta Grossa, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, Uvaranas, CEP 84030-900, Ponta Grossa-PR, wisch022@hotmail.com. <sup>2</sup>Simon Fraser University; <sup>3</sup>Embrapa Soja.

Desde a liberação comercial em 2013, a soja Bt, que expressa a proteína Cry1Ac, tem sido amplamente cultivada no Brasil (GALVÃO, 2015), como opção para o controle das principais lagartas da soja, entre as quais merecem destaque *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebididae) e *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) (CTNBio, 2010). Porém, em razão da sucessão de culturas, do longo período de cultivo e das extensas áreas com essa oleaginosa, outros organismos estarão expostos aos efeitos letais ou subletais da proteína Cry1Ac. Por exemplo, a lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) naturalmente apresenta tolerância à Cry1Ac e quando alimentada com discos foliares de soja Bt, observa-se prolongada fase larval e menor fecundidade (BERNARDI et al., 2014). Caracterizados os efeitos subletais de Bt sobre os parâmetros biológicos dos insetos, a ampla disponibilidade de Cry1Ac também poderá ter implicações nas interações com agentes microbianos no controle de pragas não alvo da tecnologia, como *S. frugiperda* e seu baculovírus.

Nesse contexto, surgem as seguintes hipóteses: i) a interação entre Cry1Ac e o baculovírus proporciona maior mortalidade de *S. frugiperda*; ii) a exposição de *S. frugiperda* às concentrações subletais de Cry1Ac afeta o rendimento do baculovírus; e iii) Cry1Ac causa impacto na infecção secundária do baculovírus. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis impactos da cepa HD-73 de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, que expressa Cry1Ac, na infectividade do vírus SfMNPV em *S. frugiperda*.

Os bioensaios foram conduzidos com lagartas de *S. frugiperda*, criadas em laboratório, com o baculovírus SfMNPV e a cepa HD-73 liofilizada, expressando Cry1Ac. Duzentas lagartas neonatas foram inoculadas com as concentrações 0, 10, 40 e 80 µg de HD-73.mL<sup>-1</sup> de dieta artificial. No final do terceiro instar, estas lagartas foram isoladas individualmente e per-

maneceram em jejum por 16 h. Posteriormente, cerca de 48 lagartas de cada tratamento, recém mudadas para o quarto instar, foram infectadas com 0, 10<sup>3</sup> ou 10<sup>4</sup> corpos de oclusão (CO) de SfMNPV por lagarta, via dieta (2 mm x 4 mm). Após 24 horas, os indivíduos que consumiram toda a dieta foram transferidos para copos plásticos de 30 mL contendo dieta livre de patógenos, permanecendo até a pupação. As lagartas foram incubadas em câmaras B.O.D. a 25±1°C, com fotoperíodo de 14:10 (L:E) e 50±10% UR.

No quarto dia após a exposição ao SfMNPV, o peso de 20 lagartas/tratamento foi registrado e a mortalidade avaliada até a completa pupação. Indivíduos com sintomas característicos da doença causada pelo vírus foram separados, colocados em tubo de microcentrífuga (1,5 mL) e, após 24 h, avaliados quanto a mortalidade. Lagartas mortas foram coletadas e armazenadas a -20°C. O rendimento de corpos de oclusão por cadáver foi quantificado em oito indivíduos por tratamento, através da câmara de Neubauer e um microscópio óptico, com magnificação de 400x.

Os bioensaios foram compostos por 12 tratamentos pelas combinações das concentrações entre HD-73 (4) e SfMNPV (3). O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, replicados e analisados em conjunto. Os dados foram submetidos a uma análise exploratória para verificar se atendem as pressuposições da análise de variância, como a normalidade e independência dos erros (SHAPIRO; WILK, 1965; PARENTE, 1984) e homogeneidade de variâncias (BURR; FOSTER, 1972). Os dados de números de corpos de oclusão foram transformados com log, por não apresentarem distribuição normal. O teste de comparação múltipla de médias utilizado foi de Tukey (p≤0,05). Os dados que não apresentaram normalidade foram analisados pelo modelo linear generalizado, distribuição normal e função de ligação identidade, e comparados pelo teste de Quiquadrado (p≤0,05). A mortalidade foi avaliada pelo modelo linear generalizado, distribui-

ção binomial, função de ligação identidade e comparada através do teste de Qui-quadrado ( $p \leq 0,05$ ).

As concentrações subletais de HD-73 afetaram negativamente o peso larval de *S. frugiperda*, podendo causar maior impacto na biomassa da lagarta quando associado com o SfMNPV, no entanto, esses resultados dependem das concentrações adotadas. Por exemplo, as melhores associações de HD-73 e SfMNPV, que proporcionaram menor peso larval, foram  $10+10^4$ ,  $40+10^3$  e  $40+10^4$   $\mu\text{g.mL}^{-1} + \text{CO.lagarta}^{-1}$ , respectivamente (Figura 1).

A infecção prévia de *S. frugiperda* com HD-73 não ocasionou ganhos significativos na mortalidade pelo baculovírus, sendo a proporção de indivíduos mortos pelas inoculações combinadas de HD-73 e SfMNPV, semelhante a ação do vírus isoladamente (Figura 2).

A exposição prévia de *S. frugiperda* a HD-73 (Cry1Ac) proporcionou menor número de corpos de oclusão por cadáver, efeito que pode estar correlacionado com o menor peso larval, o que conseqüentemente reduz drasticamente a fonte de inóculo para subseqüentes infecções (Figura 3).

### Conclusão

As concentrações subletais de HD-73 (Cr1Ac) causam impactos negativos na interação de SfMNPV com *S. frugiperda*. Os efeitos mais drásticos são na multiplicação do SfMNPV, que reflete em menor fonte de inóculo para infecções secundárias. Esses resultados indicam que não haveria benefícios para o patógeno, na adoção conjunta de soja Bt e o SfMNPV, no controle de *S. frugiperda*.

### Referências

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M., CARVALHO, R. A.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33-40, 2014.

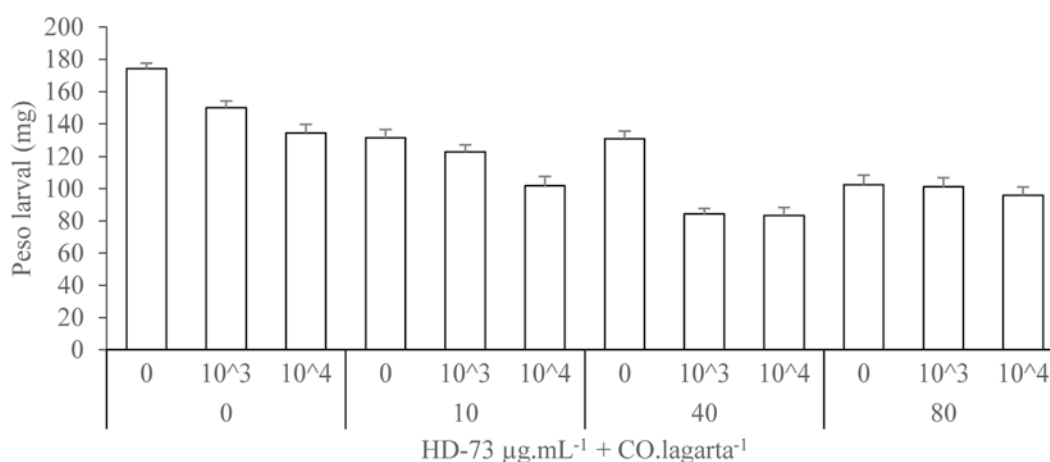
BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo series, 282).

CTNBio. COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. **Parecer técnico nº 2542/2010**. Liberação comercial de soja geneticamente modificada resistente a insetos e tolerante a herbicida, soja MON 87701 x MON 89788. 2010.

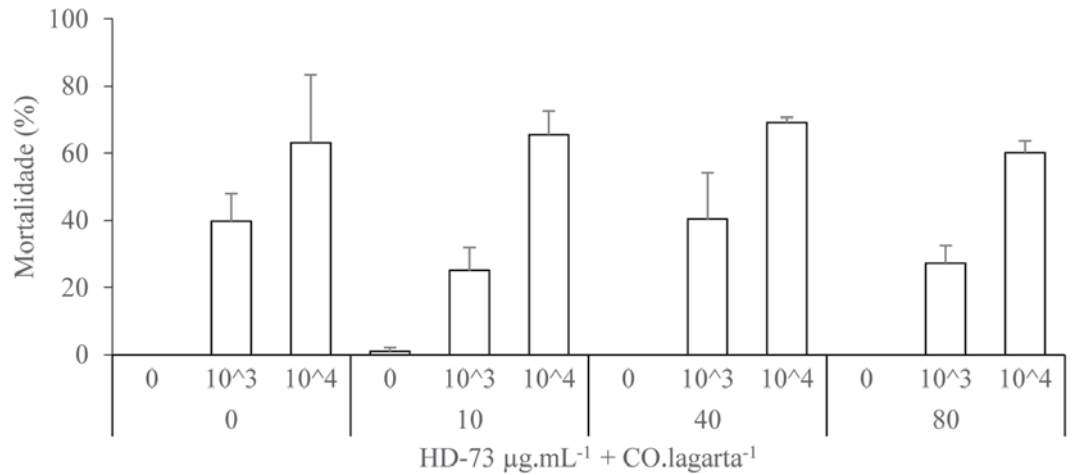
GALVÃO, A. (ed.). **Informativo biotecnologia: 3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola, safra 2014/15**. Belo Horizonte: Céleres, jun. 2015. Disponível em: <[http://www.celeres.com.br/docs/biotecnologia/IB1501\\_150611.pdf](http://www.celeres.com.br/docs/biotecnologia/IB1501_150611.pdf)>. Acesso em: 09 dez. 2015.

PARENTE, R. C. P. **Aspectos da análise de resíduos**. 1984. 118f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

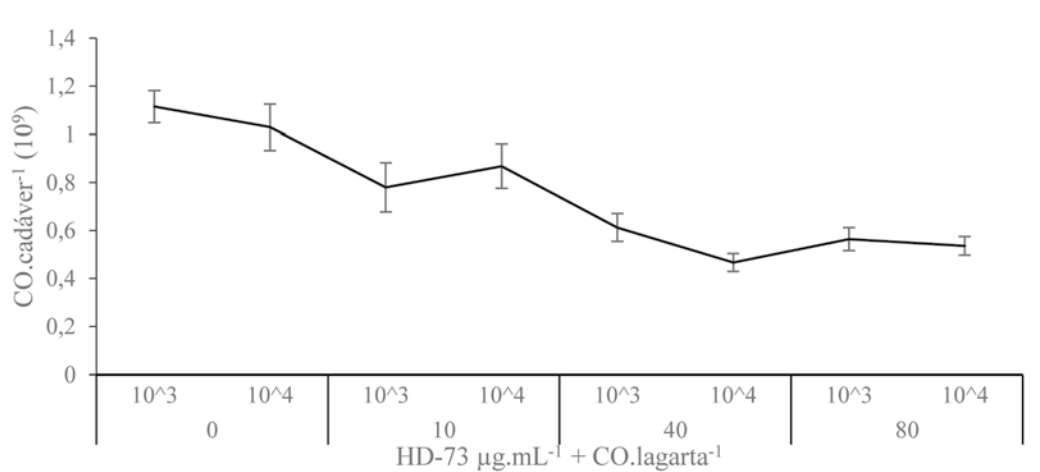
SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.



**Figura 1.** Peso larval ( $\pm$ EP) de *Spodoptera frugiperda* aos quatro dias após a infecção com 0,  $10^3$  e  $10^4$  CO de SfMNPV.lagarta $^{-1}$  e previamente expostas à 0, 10, 40 e 80  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de HD-73 (Cry1Ac). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Qui-quadrado ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Mortalidade (%) ( $\pm$ EP) de *Spodoptera frugiperda* após a infecção com diferentes concentrações de vírus de poliedrose nuclear (SfMNPV), 0, 10<sup>3</sup> e 10<sup>4</sup> CO de SfMNPV.lagarta<sup>-1</sup>, e previamente expostas à 0, 10, 40 e 80 µg.mL<sup>-1</sup> de HD-73 (Cry1Ac). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Qui-quadrado ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Rendimento de corpos de oclusão ( $\pm$ EP) por cadáver de *Spodoptera frugiperda*, após a infecção com 10<sup>3</sup> e 10<sup>4</sup> CO de SfMNPV.lagarta<sup>-1</sup>, em lagartas previamente expostas às concentrações 0, 10, 40 e 80 µg.mL<sup>-1</sup> de HD-73 (Cry1Ac). Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).