

SUSCETIBILIDADE DE BIÓTIPOS DE *Spodoptera frugiperda* À MILHO *Bt* E ARROZ

OCTAVIO GABRYEL ARAUJO¹, SIMONE MARTINS MENDES¹, ANA PAULA
SCHNEIDT AFONSO DA ROSA², ROSANGELA CRISTINA MARUCCI³, CHRISTIANE
ALMEIDA DOS SANTOS¹, TATIANE APARECIDA NASCIMENTO BARBOSA¹ e
ALINE SILVIA DIAS¹

¹Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil, octavio_gabriel1991@hotmail.com, simone@cnpmc.embrapa.br, chris.as.p@hotmail.com, taty71@hotmail.com, alinedias518@gmail.com

²Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil, ana.afonso@embrapa.br

³Centro Universitário de Sete Lagoas, Sete Lagoas, MG, Brasil, rosangela.marucci@unifemm.edu.br

RESUMO – A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* causa injúria nas culturas do arroz, milho e sorgo, dentre outras, sendo descritas raças em diferentes localidades e hospedeiros. Objetivou-se caracterizar a suscetibilidade dos biótipos “milho” e “arroz” de *S. frugiperda* existente nas terras baixas do Sul do país (Pelotas-RS). Avaliou-se sobrevivência e biomassa larval e imatura dos dois biótipos de *S. frugiperda* mantidos em milho expressando proteínas *Bt* e em arroz. Os maiores valores de sobrevivência larval coincidiram com os maiores valores de biomassa (arroz e milho não-*Bt*). Quanto à sobrevivência na fase imatura verificou-se que os biótipos em seus respectivos hospedeiros não apresentaram diferenças significativas, porém o biótipo “milho” se mostrou altamente adaptado ao milho *Bt* contendo a proteína Cry1Ab. Assim, conclui-se que as larvas do biótipo “arroz” são mais suscetíveis a proteína Cry1Ab expressa em milho, apresentando menor sobrevivência e biomassa que as do biótipo “milho”.

Palavras-chave: *Zea mays*, *Oryza sativa*, lagarta-do-cartucho, transgênico, biótipo

SUSCEPTIBILITY OF *Spodoptera frugiperda* MAIZE AND RICE BIOTYPES FEEDING ON *Bt* CORN AND RICE.

ABSTRACT - The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* cause damage on rice, maize and sorghum crops, among others, being described biotypes in different locations and hosts. In order to characterize the susceptibility of biotypes "maize" and "rice" of existing species in the southern Brazil (Pelotas) this study evaluated the biological aspects of the two biotypes of *S. frugiperda* maintained in Bt maize expressing different proteins and rice. Survival and larval biomass and immature were evaluated. The highest values of larval survival coincided with higher biomass (rice and non-Bt maize). As for survival in the immature stage it was found that the biotypes in their respective hosts showed no significant differences, but the biotype "maize" was highly adapted to Bt maize containing the Cry1Ab protein. Thus, we conclude that the fall armyworm of biotype "rice" are more susceptible to Cry1Ab protein expressed on maize, with lower survival and biomass that the biotype "maize".

Keywords: *Zea mays*, *Oryza sativa*, fall armyworm, transgenic, biotypes

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é originária das zonas tropicais e ocorre em toda a América. É um inseto polígrafo, que se alimenta de muitas plantas cultivadas, em especial de gramíneas (Sarmiento et al., 2002). No Brasil, a lagarta-do-cartucho também é comumente conhecida como lagarta-militar, lagarta-dos-capinzais, lagarta-dos-milharais, lagartas-dos-arrozais. No estágio larval, se alimenta principalmente do cartucho de plantas novas podendo causar perdas na cultura do milho superiores a 30%. Porém, dados sobre as reduções no rendimento ainda são escassos, pois estes dependem de fatores como o ambiente, a cultivar plantada, práticas agrícolas e, principalmente, do estágio de desenvolvimento e estado nutricional das plantas. Além disso, a voracidade do biótipo é um fator que pode influenciar na produção (Cruz, 1995).

Essa praga do arroz, independente do sistema de produção, seja ele irrigado, predominante na região sul do país, ou de terras altas com ocorrência nos estados de Mato Grosso, Maranhão e Pará, causa danos severos à cultura (Martins e Afonso, 2007). No arroz irrigado, *S. frugiperda* é encontrada alimentando-se de plantas novas, antes da inundação definitiva dos arrozais, quando o inseto corta os colmos das plantas rente ao solo (Busato et al., 2004). Os danos causados à cultura representam a destruição ou enfraquecimento de plantas novas, corte de colmos ao nível do solo, desfolhamento de plantas desenvolvidas e panículas.

Estudos realizados nos EUA revelaram a existência de duas raças que habitam a mesma área, que ocorrem ao mesmo tempo, e que tendem a usar hospedeiros diferentes (Pashley, 1986). A “raça arroz” foi encontrada se alimentando de arroz, capim braquiária, e outras gramíneas, enquanto a “raça milho” foi encontrada alimentando-se de milho e algodão (Pashley 1993).

Os estudos relacionados à *S. frugiperda* revelaram a existência de dois biótipos em função do hospedeiro também na região Sul do Brasil, o “biótipo milho” e “biótipo arroz”, sendo que esses encontram-se em processo inicial de especiação e representam raças associadas a plantas hospedeiras (Busato et al., 2008). Além disso, esses autores relataram a importância da constatação de biótipos de *S. frugiperda* para a entomologia econômica, pois podem responder diferenciadamente as estratégias de controle. SALINAS-HERNANDEZ et al. (2011) não constataram evidências de diferenças de raça de *S. frugiperda* em função do hospedeiro nas condições da Colômbia, porém, JUAREZ et al. (2012) trabalhando com indivíduos dessa espécie coletados em Brasil, Argentina e Paraguai, detectaram a existência de haplótipos mitocondriais nos hospedeiros “arroz” e “milho”, além de mostrar que a distribuição do haplótipo do arroz é aparentemente mais ampla, sendo encontrada em outros hospedeiros, como alfafa.

O milho Bt (*Bacillus thuringiensis*) caracteriza-se como uma tecnologia para o manejo de pragas utilizada no Brasil desde a safra 2008/09, que expressa proteínas inseticidas que atuam em lepidópteros-praga dentre eles, a lagarta-do-cartucho do milho (Leite, et al 2011). Estimativas para a safra de 2012/2013 apontam que a área cultivada no Rio Grande do Sul deve ultrapassar 1,1 milhões de hectares dos quais 85,7% serão de milho transgênico (Galvão et al, 2012).

Dessa forma, pressupõe-se, que as estratégias de manejo para essa espécie possa ter ação diferenciada para ambos biótipos. Assim, com intuito de caracterizar os dois biótipos dessa espécie, quanto à suscetibilidade às proteínas expressas em milho Bt o objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos biológicos dos biótipos “milho” e “arroz” de *S. frugiperda* provenientes de Pelotas-RS, mantidos em milho expressando diferentes proteínas Bt e em arroz.

Material e Métodos

As larvas de *S. frugiperda* utilizadas nesse ensaio foram provenientes de culturas de milho (Talhão 13 - S 31°49'00.7" W 052°27'56.1") e arroz (Talhão 60 - S 31°48'44.1" W 052°27'55.5") localizadas em Pelotas - RS, representando assim dois biótipos presentes

naquela região. Em laboratório, as larvas passaram por uma seleção inicial para que houvesse uma padronização dos insetos para formação da colônia visando remoção de possíveis parasitóides e indivíduos doentes. Os indivíduos utilizados foram provenientes da segunda geração da criação em laboratório e o experimento foi realizado em casa de vegetação na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas- MG.

Para realização do experimento foram semeados 30 vasos de cada material: milho P30F35 – Pionner® não *Bt*, P30F35HX (expressando a proteína Cry1F), P30F35YG (expressando Cry1Ab) e um cultivar de arroz (Caiapó). Após a emergência foi feito o desbaste de plantas, deixando nos vasos de milho duas plantas e nos de arroz quatro plantas. A infestação foi realizada quando as plantas de milho se encontravam em estágio V4. Em cada vaso colocaram-se 10 larvas recém-eclodidas de *S. frugiperda*, sendo cada vaso considerado uma repetição, totalizando 15 repetições. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, assim os tratamentos foram compostos pela combinação do biótipo e da planta na qual foi feita a infestação (Tabela 1).

As avaliações de injúria foliar foram realizadas a cada sete dias após a infestação, totalizando três coletas de dados seguindo escala de notas proposta por CARVALHO (1970) (Tabela 2). As avaliações de sobrevivência e biomassa foram realizadas aos 14 dias após infestação, sendo utilizados oito vasos. Foram retiradas todas as lagartas existentes nos vasos para determinação da sobrevivência e biomassa (mg). Após a formação das pupas retirou-se os sete vasos restantes para avaliação de sobrevivência e biomassa em balança de precisão. Os dados de biomassa e sobrevivência foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott.

Resultados e Discussão

Sobrevivência e Biomassa aos 14 dias

Não houve diferença significativa para a sobrevivência de larvas do biótipo “milho” de *S. frugiperda* mantidas em milho expressando as proteínas Cry1Ab ou Cry1F, medida 14 dias após eclosão e infestação. No entanto, as larvas do biótipo “milho” apresentaram maior sobrevivência em arroz do que em milho. Já para larvas do biótipo “arroz”, houve diferença quanto à sobrevivência para alimentação em milho expressando Cry1F e Cry1Ab, sendo maior quando esses insetos se alimentaram de arroz, seguido de milho não *Bt* e Cry 1Ab

(Figura 1). WAQUIL et al. (2002) também constataram diferença na suscetibilidade às proteínas *Bt* para larvas de *S. frugiperda* se alimentando de milho expressando diferentes proteínas *Bt*, onde as larvas apresentaram menor sobrevivência para alimentação em milho expressando Cry1F.

Outro aspecto observado foi que a sobrevivência de ambos os biótipos foi superior quando mantidos em plantas de arroz. Conforme constatado por vários autores, o desempenho larval do biótipo “arroz” foi melhor em plantas de arroz do que em plantas de milho, enquanto que o biótipo “milho” desenvolveu-se igualmente bem em ambas as plantas (Pencoe e Martin, 1981; Pashley, 1988, Whitford, 1988, Pashley et al., 1995, Busato et al., 2005).

A biomassa de larvas medida aos 14 dias seguiu o mesmo padrão da sobrevivência larval, sendo praticamente nula para larvas dos biótipos “milho” e “arroz” alimentando-se do milho expressando as proteínas Cry1Ab e Cry1F, intermediária para as larvas dos dois biótipos alimentando-se em milho não-*Bt* e superior para larvas do biótipo “arroz” mantidas no arroz (Figura 2). Segundo BUSATO et al. (2002, 2004) o biótipo “arroz” apresenta melhor performance em ambos hospedeiros. PASHLEY et al. (1995) relataram que o biótipo “arroz” é encontrado naturalmente em outros hospedeiros como milho. Além disso, MEAGHER et al. (2004) e GROOT et al. (2010) encontraram que as larvas do biótipo “arroz” apresentam maior biomassa e menor período de desenvolvimento em milho e sorgo.

Biomassa de pupas e sobrevivência da fase imatura

Não houve diferença na sobrevivência da fase imatura para larvas do biótipo “arroz” mantidas em milho não *Bt* e para larvas do biótipo “milho” mantidas em arroz, sendo que ambos apresentaram maiores valores de sobrevivência. Já para larvas do biótipo “arroz”, mantida em arroz e milho tanto não *Bt*, quanto *Bt* expressando Cry1Ab a sobrevivência foi intermediária e praticamente nula para larvas dos dois biótipos mantidas em milho expressando Cry1F e do biótipo “arroz” mantidas em milho *Bt* Cry1Ab (Figura 3). Os dados indicam que a suscetibilidade à proteínas *Bt* varia com o biótipo de *S. frugiperda*. Esse dado está de acordo com JUAREZ et al (2012) que mostra que a diferença de adequação aos diferentes hospedeiros depende do biótipo de *S. frugiperda* analisado. Observa-se também que apesar das larvas do biótipo “arroz” apresentarem maior sobrevivência na fase larval em milho expressando Cry1Ab, essas não conseguiram completar a fase imatura, diferenciando daquelas do biótipo “milho”, que apresentaram sobreviventes quando mantidas em milho Cry1Ab.

É importante ressaltar que os valores de sobrevivência encontrados não são comparáveis àqueles encontrados por DE SÁ et al (2009) e com outros trabalhos de avaliação da sobrevivência em laboratório. Nesse ensaio foram realizados ensaios de casa-de-vegetação, onde a própria arquitetura da planta favorece uma maior mortalidade natural, embora nos vasos tenham sido colocadas gaiolas de tecido tipo *voil* para evitar a entrada de qualquer fator externo de mortalidade.

Não foi verificada diferença na biomassa de pupas dos diferentes tratamentos, assim aqueles insetos coletados em milho mantidos em milho expressando Cry1Ab que concluíram a fase imatura apresentaram biomassa similar àquela dos demais tratamentos (Figura 4). Esse resultado contraria os resultados de LYNCH et al (1999) que relataram que a proteção oferecida pela proteína Cry1Ab no milho *Bt* contra a infestação por *S. frugiperda* ocorre, primariamente, pela redução da taxa de desenvolvimento e ganho de peso.

Os resultados obtidos são importantes para orientar as questões de manejo de resistência de insetos em milho *Bt* na região Sul do País, pois a suscetibilidade dos híbridos de milho pode variar em função da proteína *Bt* expressa e com o biótipo de *S. frugiperda* em questão, devendo-se considerar a interação entre esses fatores na definição das estratégias de manejo da resistência (Mendes et al., 2011)

Injúria Foliar

Verificou-se diferença entre os tratamentos em relação a injúria causada por *S. frugiperda* nas diferentes plantas avaliadas. Larvas do biótipo “arroz” foram responsáveis por maiores notas de danos tanto em milho não *Bt*, quanto em milho *Bt* expressando Cry1Ab. No entanto, não houve injúria nas plantas de milho expressando Cry1F quando submetido à alimentação dos dois biótipos. Além disso, larvas do biótipo “milho” não causaram injúria nas plantas de arroz (Figura 5). BUSATO et al (2004) concluiu que o biótipo “arroz” é mais especializado fisiologicamente, o que explica a elevada injúria causado por esse biótipo quando alimentado com folhas de milho. Em contrapartida as larvas do biótipo “milho” quando alimentadas com arroz podem ter sentido maior impacto devido ao maior teor de sílica encontrado nestas folhas.

É interessante observar que mesmo não causando injúria em plantas de arroz, as larvas do biótipo “milho” foram capazes de completar o ciclo alimentando-se de plantas de arroz.

Conclusão

As larvas de *Spodoptera frugiperda* do biótipo “arroz” apresentam maior suscetibilidade à proteína Cry1Ab expressa em milho, com menor sobrevivência e biomassa que àquelas do biótipo “milho” que apresentam maiores valores de injúria em milho expressando Cry1Ab.

Os biótipos “milho” e “arroz” de *S. frugiperda* apresentam alta suscetibilidade à proteína *Bt* Cry1F expressa em milho.

Os dois biótipos apresentam maior sobrevivência quando mantidos em arroz e o biótipo “arroz” apresenta maior sobrevivência no milho quando comparado ao biótipo “milho”.

Agradecimentos

A EMBRAPA MILHO E SORGO a FAPEMIG e a EMBRAPA CLIMA TEMPERADO

Literatura Citada

BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M.; BANDEIRA, J.M.; RODRIGUES, T.R. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas ao milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 33, n. 6, p. 709-716, 2004.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; NÖRNBERG, S. D.; NEVES, M. B. das; Preferência e consumo de dois biótipos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae) por folhas de milho e arroz irrigado. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 3, p. 317-322. Pelotas-RS 2004

BUSATO, G. R; GRÜTZMACHER, M. S. G; GIOLO, F. P; ZOTTI, M. J; JUNIOR, G. S. Biologia Comparada de Populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Folhas de Milho e Arroz. **Neotropical Entomology**, v.34, n.5, p.743-750 . Pelotas- RS. 2005

BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; MARTINS, A. F. Consumo e Utilização de Alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Originária de Diferentes Regiões do Rio Grande do Sul, das Culturas do Milho e do Arroz Irrigado. **Neotropical Entomology**, v.31, n.4, p.525-529 Pelotas- RS. 2002

BUSATO, G.R.; LOECK, A. E.; GARCIA, M.S.; BERNARDI, O; ZART, M.; NUNES, A.M.; ZAZYCKI, C.F. Compatibilidade reprodutiva entre os biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.14, n.2, p.273-278. Pelotas-RS 2008

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura milho. Sete Lagoas EMBRAPA/CNPMS, 1995, 45p. (EMBRAPA/CNPMS Circular Técnica, 21)

MARTINS, J. F. da S; AFONSO, A. P. S; Importância Econômica de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) como Praga do Arroz no Brasil. EMBRAPA. Pelotas – RS. v.1, p.33. Dezembro 2007.

CARVALHO, R. L. P. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes cultivares de milho, em condições de campo. 1970. 170f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1970.

LYNCH, R. E.; WISEMAN, B. R.; PLAINSTED, D.; WARNIK, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm. **Journal Economic Entomology**, College Park, v. 92, n. 1, p. 246-252, 1999.

PASHLEY, D. P. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex? **Entomology. Soc.** 1986. p. 898-904

PASHLEY, D. P. Causes of host-associated variation in insects herbivores: an example from fall armyworm. In. KIM, K. C., MACPHERON, B. A. Evolution of insects pets: patterns of variation. New York: John Wiley & Sons. 1993, 351-359

SALINAS-HERNANDEZ, H.; and SALDAMANDO-BENJUMEA, CI. Haplotype identification within *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) corn and rice strains from Colombia. **Neotropical Entomology**. 2011, vol.40, n.4, pp. 421-430.

SARMENTO. R. de A.; AGUIAR. R. W. de S.; AGUIAR. R. de A. S. de S.; VIEIRA. S. M. J.; OLIVEIRA. H. G. de.; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia, ocorrência, e controle de *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) em milho no Brasil. **Biose J.**, v.18, n.2, p. 41-48,dec. 2002.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. RESISTÊNCIA DO MILHO (*Zea mays* L.) TRANSGÊNICO (Bt) À LAGARTA-DO-CARTUCHO, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.3, p.1-11, 2002.

Tabelas e Figuras

Tabela 1 – Delimitação dos tratamentos em função do biótipo e da planta hospedeira utilizada no bioensaio.

Tratamento	Biótipo	Planta utilizada no	
		Bioensaio	Nº repetições
1	"Arroz"	Milho não <i>Bt</i>	15
2	"Arroz"	Milho Cry1Ab	15
3	"Arroz"	Milho Cry1F	15
4	"Arroz"	Arroz	15
5	"Milho"	Milho não <i>Bt</i>	15
6	"Milho"	Milho Cry1Ab	15
7	"Milho"	Milho Cry1F	15
8	"Milho"	Arroz	15

Tabela 2. Escala (0 a 5) para avaliação dos danos causados por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) no cartucho do milho.

Nota	Descrição do dano
0	Planta sem dano
1	Planta com folha raspada
2	Planta com folha furada
3	Planta com lesão nas folhas e no cartucho
4	Planta com cartucho destruído
5	Planta com muitas folhas e cartucho totalmente destruído

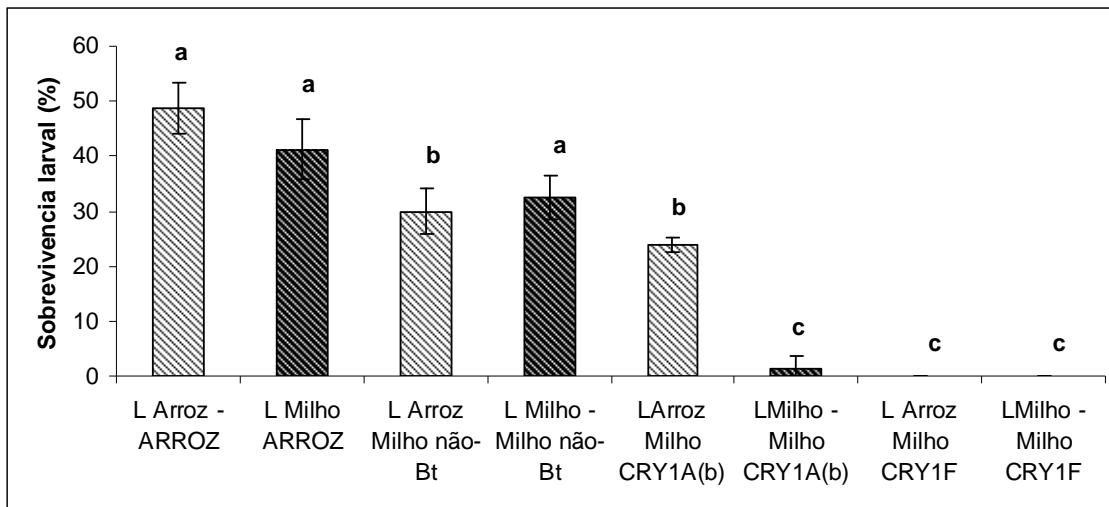


Figura 1: Sobrevivência média de biótipos de *Spodoptera frugiperda* aos 14 dias alimentando-se de milho não *Bt*, milho *Bt* e arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

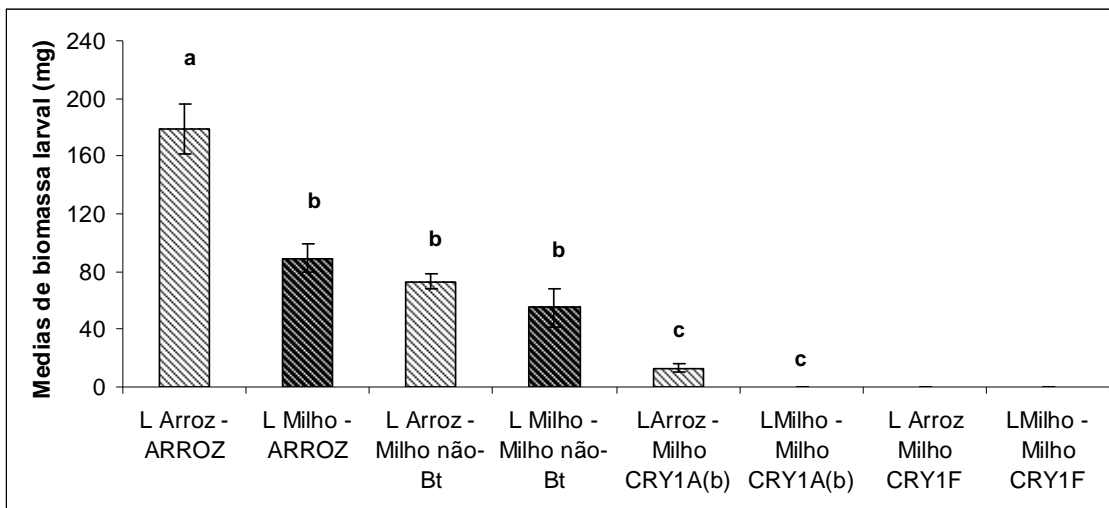


Figura 2: Biomassa média de biótipos de *Spodoptera frugiperda* aos 14 dias alimentando-se de milho não *Bt*, milho *Bt* e arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

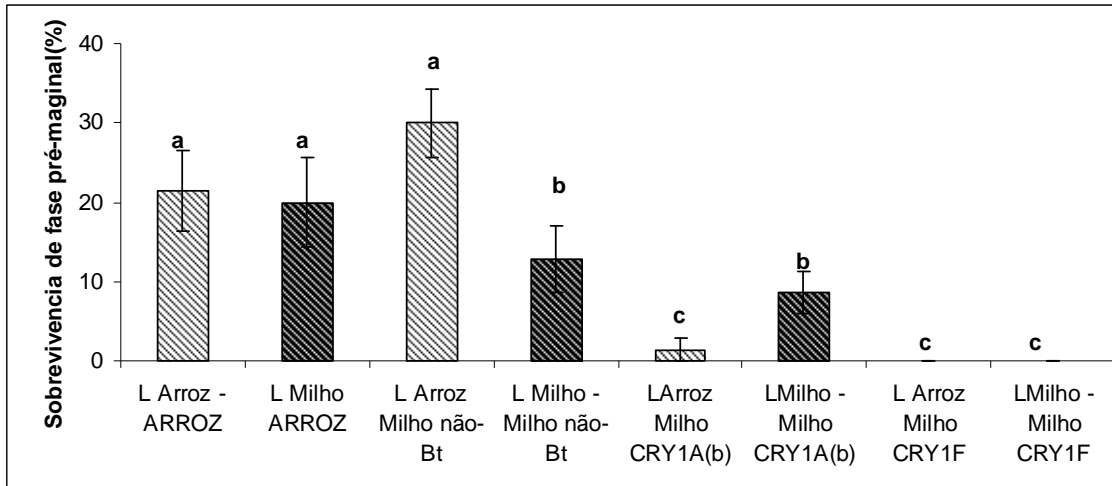


Figura 3: Sobrevivência média da fase imatura de biótipos de *Spodoptera frugiperda* alimentando-se de milho não *Bt*, milho *Bt* e arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

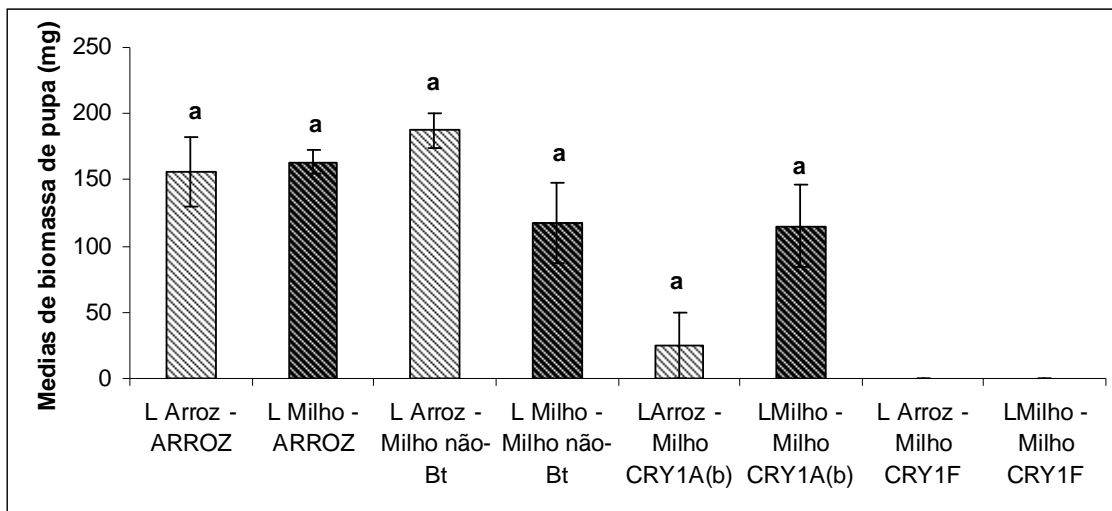
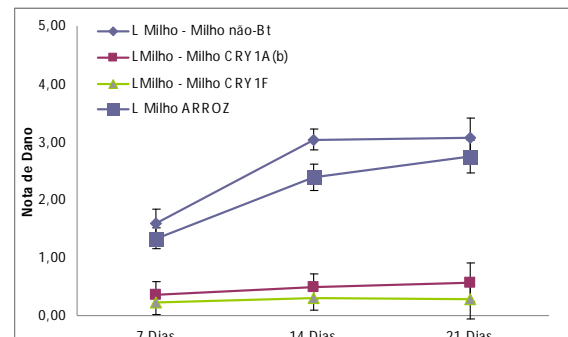
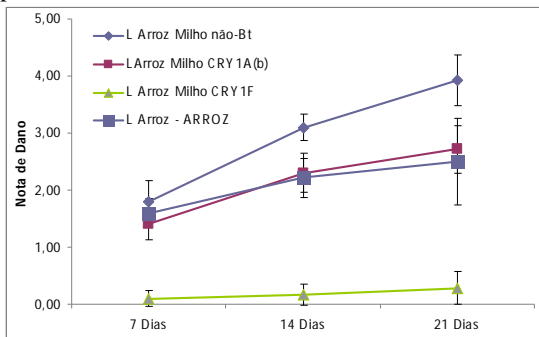


Figura 4: Biomassa média de pupas de biótipos de *Spodoptera frugiperda* alimentando-se de milho não *Bt*, milho *Bt* e arroz. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



Figuras 5 e 6: Representação do injúria foliar causado pelos biótipos “arroz” e “milho” de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz e de milho *Bt* (Cy 1Ab e Cry 1F) e não *Bt*.