

Efeito da interação de *Podisus nigrispinus* e milho Bt na evolução de injúrias causadas pela infestação de *Spodoptera frugiperda*

Michelle Vilela⁽¹⁾; Lilian Oliveira Silva⁽²⁾; Cristiane Almeida dos Santos⁽²⁾; Natália Alves Leite⁽²⁾; Simone M. Mendes⁽³⁾; Tatiane A. Nascimento Barbosa⁽²⁾

⁽¹⁾Pós-doutoranda, Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas, MG, michellevilela@live.com; ⁽²⁾Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG; ⁽³⁾Pesquisadora; Embrapa Milho e Sorgo, simone.mendes@embrapa.br.

RESUMO: As plantas geneticamente transformadas podem afetar indiretamente os inimigos naturais, sendo a avaliação desses efeitos essenciais na análise de risco de plantas transgênicas, contudo a interação com controle biológico pode ser uma estratégia útil para o manejo de resistência de insetos. Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da interação da utilização de *Podisus nigrispinus*, como agente de controle biológico em milho Bt, expressando Cry1Ab, Cry1F e evolução das injúrias causadas pela infestação de *Spodoptera frugiperda* resistente e suscetível às proteínas Bt. Houve diferença significativa na nota de injúria, causada pela infestação de *S. frugiperda*, quando adicionado o predador em casos de milho convencional, milho Bt expressando Cry1Ab e milho Bt expressando Cry1F, quando infestado com lagartas resistentes à essa tecnologia.

Termos de indexação: organismos não-alvo, controle biológico, inimigos naturais.

INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, é crescente o uso de plantas geneticamente modificadas, que expressam as proteínas inseticidas, *Bacillus thuringiensis* (Bt), (James 2011). Estas plantas são um importante componente do manejo integrado de pragas (Romeis et al., 2008). No entanto, vários países têm estabelecido órgãos reguladores para acompanhar o desenvolvimento desses organismos para fins comerciais e de pesquisa (O'Callaghan et al., 2005).

Possíveis efeitos das culturas Bt sobre organismos não-alvo pode ser tanto direta ou indireta (Lovei et al., 2009; Naranjo 2009). Os efeitos diretos podem ser pela toxicidade da ingestão de tecidos de tais plantas por organismos não-alvo, já os efeitos indiretos podem ocorrer por interações multitróficas (Craig et al., 2008; Romeis et al., 2006).

A espécie *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) é um importante predador de hábito generalista e tem sido considerado um promissor agente de controle biológico de pragas (Zanuncio et al., 1996), inclusive de lagartas da família Noctuidae (Mohaghegh et al., 2001), por exemplo *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). O Controle biológico natural ou aplicado de *S. frugiperda* em áreas onde as plantas Bt são cultivadas pode ser de grande importância, inclusive quando avaliado como estratégia de manejo de resistência de insetos.

Os efeitos das plantas Bt em percevejos são incertos, devido às peças bucais, uma vez que esses insetos podem ingerir partes do corpo da presa onde não há proteína Bt (Romeis et al., 2006). Entretanto, Cunha et al. (2012) mostraram que *P. nigrispinus* pode adquirir proteína Cry1Ac quando alimentados com lagartas de *S. frugiperda* expostas a ela, o que pode afetar a capacidade de predação.

Devido à incerteza sobre a exposição de proteínas a predadores Hemípteros, estudos são necessários para esclarecer o impacto que o milho Bt possa causar. Por isso, objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da interação da utilização de *P. nigrispinus*, como agente de controle biológico em milho Bt, expressando Cry1Ab, Cry1F e evolução das injúrias causadas pela infestação de *S. frugiperda* resistente e suscetível às proteínas Bt.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação (25 ± 5 °C, UR 70 ± 15%) em abril de 2013 na Embrapa Milho e Sorgo. Foram utilizados insetos de colônia de laboratório e os seguintes híbridos comerciais: milho 30F35 YG expressando Cry1Ab, 30F35 HX expressando Cry1F e um milho híbrido isogênico não-Bt como controle. Três plantas de milho foram plantados em vasos (20 L) com o solo como substrato e adubadas com 50 g de

NPK 08-28-16 e 0,3% Zn/100 kg de solo. As plantas foram irrigadas diariamente (500 mL de água).

Metade dos vasos foram infestados manualmente com cinco lagartas de *S. frugiperda* recém-eclodidas de colônia suscetível padrão de laboratório e a outra metade com cinco lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda* resistente à Cry1F obtidas de acordo com metodologia proposta em Leite (2012), quando as plantas estavam no estágio V6. Os vasos foram cobertos com um tecido *voil* e um suporte metálico foi usado para sustentá-lo. Cinco dias após a infestação, metade das plantas de cada tratamento (12 vasos) receberam cinco ninfas de segundo instar de *P. nigrispinus*.

Foram avaliadas as lesões causadas por *S. frugiperda* sobre as plantas. Para isto foi utilizada uma escala de notas de Carvalho (1970) de 0 (zero) a 5 (cinco), onde: 0 - corresponde às plantas sem injúrias; 1 - plantas com folhas raspadas; 2 - plantas com folhas perfuradas; 3 - plantas com lesões em folhas e caule; 4 - plantas com lesões em folhas e no cartucho; e 5 - plantas com lesões em folhas e com o cartucho totalmente destruído. As lesões foram avaliadas aos 7, 15 e 21 dias após a infestação de lagartas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com oito tratamentos e 12 repetições. Todos os dados foram submetidos à Análise de Variância (Teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo critério de não sobreposição do intervalo de confiança a 5% de probabilidade (equivalente ao teste t).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa para a nota de injúria nos diferentes tratamentos. Quando comparada a nota de injúria em tratamento de milho convencional com adição de lagarta e milho convencional com adição de lagartas e liberação do predador, foi possível observar a redução significativa da nota de injúria, sendo que aos 21 dias após a infestação essa nota foi de 1,30 quando adicionado *P. nigrispinus*; enquanto a testemunha sem predador a nota foi de 3,33. Contudo não houve diferença significativa para a nota de injúria quando adicionado o predador em milho expressando a proteína Cry1Ab (Figura 1).

Observa-se que as notas de injúrias em tratamentos em que houve a liberação do predador foram as mesmas ao final de 22 dias, tanto em plantas convencionais quanto em plantas geneticamente modificadas. Esse resultado corrobora com os encontrados por Jesus et al. (2014), que estudaram o comportamento, desenvolvimento e predação de *P. nigrispinus* em *S. frugiperda* alimentada com cultivares convencionais e de algodão transgênico expressando a proteína Cry1Ac (NuOpal). Esses autores observaram que

existe uma atração semelhante do inseto predador às lagartas alimentadas com cultivar convencional quanto geneticamente modificada.

Também, em bioensaio realizado em campo na região de Dourados-MS, com as cultivares NuOpal (Cry1Ac) e DeltaOpal (convencional), Bertonecello et al. (2007), verificaram que a cultivar de algodão-Bt NuOpal não teve impacto na população de predadores de solo em comparação com a cultivar convencional.

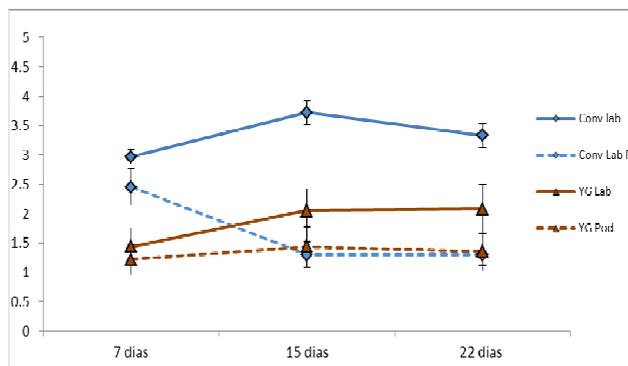


Figura 1 – Nota de injúria (\pm IC, $P=0,05$) causada pela infestação de *Spodoptera frugiperda* suscetível em milho convencional 30F35 (conv lab), em milho convencional adicionado de *Podisus nigrispinus* (conv Lab P) e em milho 30F35 YG (YG Lab) e milho 30F35Hx e *Podisus nigrispinus* (YG Pod) aos 7, 14 e 22 dias após infestação.

Para o tratamento em que o milho Bt expressava a proteína Cry1F, observou-se diferença significativa da liberação de *P. nigrispinus* na nota de injúria, que foi de 0,16 aos 21 dias após liberação da lagarta, ou seja, anulou completamente os danos na planta e, para a testemunha com Cry1F, sem predador a nota foi de 1,3 (Figura 2).

Avaliou-se também o efeito da liberação do predador quando utilizadas lagartas resistentes ao Cry1F. Nesse caso, não se observou diferença significativa para o tratamento convencional. Ou seja, a adição do predador teve um papel importante na redução da nota de injúria causada pela lagarta *S. frugiperda* em milho expressando Cry1F (Figura 3).

Malaquias et al. (2014) quantificaram e descreveram as interações entre o algodão Bt e *P. nigrispinus* no manejo de *S. frugiperda* resistentes a lambda-cialotrina. As lagartas foram alimentadas com folhas de algodão Bt expressando Cry1Ac. As fêmeas de *P. nigrispinus* investiram uma quantidade maior de tempo na manipulação das lagartas de *S. frugiperda* que foram susceptíveis a inseticidas e alimentadas algodão não-Bt em comparação com os aquelas resistentes à inseticidas e alimentadas com algodão Bt ou até mesmo em comparação com aqueles que eram resistentes lambda-cialotrina e alimentadas com algodão Bt ou não-Bt. Portanto, foi concluído esses autores concluíram que a

integração de plantas Bt com controle biológico com a utilização de *P. nigrispinus* torna-se importante para o sucesso do controle de *S. frugiperda* resistentes ao inseticida lambda-cialotrina. Resultados semelhantes foram observados em lagartas resistentes à proteína Cry1F em milho (Figura 2).

Assim, a associação das estratégias de manejo, controle com plantas transgênicas expressando proteínas Bt e uso de predadores, é opção promissora, que pode ser empregada em campo visando a otimização do controle de pragas.

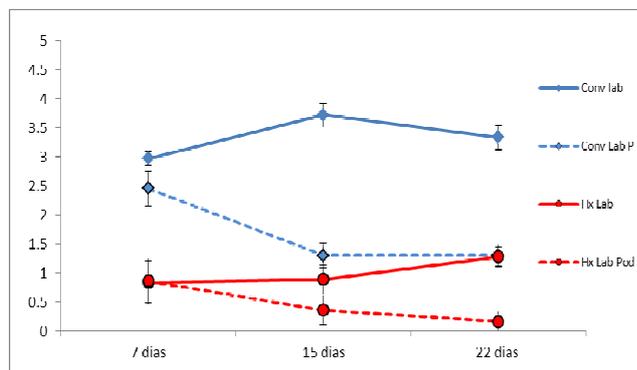


Figura 2 – Nota de injúria (\pm IC, $P=0,05$) causada pela infestação de *Spodoptera frugiperda* suscetível em milho convencional 30F35 (conv lab), em milho convencional adicionado de *Podisus nigrispinus* (conv Lab P) e em milho 30F35 HX (Hx Lab) e milho 30F35Hx e *Podisus nigrispinus* (Hxlab Pod) aos 7, 14 e 22 dias após infestação

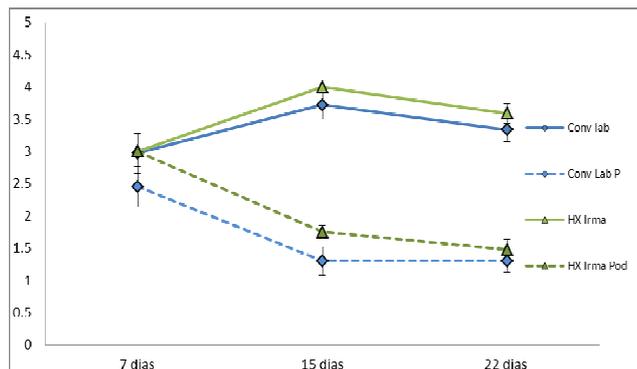


Figura 3 – Nota de injúria (\pm IC, $P=0,05$) causada pela infestação de *Spodoptera frugiperda* suscetível em milho convencional 30F35 (conv lab), em milho convencional adicionado de *Podisus nigrispinus* (conv Lab P) e de *Spodoptera frugiperda* resistente à HX em milho 30F35 HX (Hx Irma) e milho 30F35Hx e *Podisus nigrispinus* (Hxirma Pod) aos 7, 14 e 22 dias após infestação.

CONCLUSÕES

A liberação de do percevejo predador *Podisus nigrispinus* reduz a nota de injúria causada por *Spodoptera frugiperda* tanto em

milho convencional, quanto em milho Bt expressando Cry1Ab, ou em milho Bt expressando Cry1F, quanto infestado com lagartas resistentes à tecnologia.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG E AO PROJETO "ESTRATÉGIAS ORIENTADAS AO MANEJO DE CULTURAS-BT ANTES E APÓS SUA INTRODUÇÃO EM AGRO-ECOSSISTEMAS DE SOJA, MILHO E ALGODÃO DO BRASIL (EDITAL EMBRAPA MONSANTO, POR APORTE FINANCEIRO.

REFERÊNCIAS

BERTONCELLO, T. F.; LIMA JÚNIOR, I. S.; THOMAZONI, D.; MELO, E. P.; DEGRANDE, P. E. Impacto do algodão-Bt na população de predadores ocorrentes sobre o solo cultivado com algodoeiro em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia, MG. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007.

CARVALHO, R. P. L. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. 1970. 170 p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2007.

CRAIG, W.; TEPFER, M.; DEGRASSI, G.; RIPANDELLI, D. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. **Euphytica**, Wageningen, v. 164, p. 853-880, 2008.

CUNHA, F. M.; CAETANO, F. H.; TEIXEIRA, V. W.; TORRES, J. B.; TEIXEIRA, A. A. C.; ALVES, L. C. Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on bt-cotton. **Micron**, Oxford, v. 436, n. 2/3, p. 245-250, 2012.

JAMES, C. (Ed.). **Global status of commercialized biotech/GM crops**: 2010. Ithaca: ISAAA, 2011. (ISAAA Brief, n. 42).

JESUS, F. G. de; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; ALVES, G. C. S.; ZANUNCIO, J. C. Behavior, development, and predation of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed transgenic and conventional cotton cultivars. **Annals of the**

Entomological Society of America, College Park, v. 107, n. 3, p. 601-606, 2014.

LOVEI, G. L.; ANDOW, D. A.; ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a Detailed Review of Laboratory Studies. **Environmental Entomology**, College park, v. 38, n. 2, p. 293-306, 2009.

MALAQUIAS, J. B.; OMOTO, C.; RAMALHO, F. S.; WESLEY, W. A. C.; SILVEIRA, R. F. *Bt* cotton and the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) in the management of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to lambda-cyhalothrin. **Journal of Pest Science**, v. 87, p. 231-247, 2014.

NARANJO, S. E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 11, p. 1-11, 2009.

O'CALLAGHAN, M.; GLARE, T. R.; BURGESS, E. P. J.; MALONE, L. A. Effects of plants genetically modified for insect resistance on nontarget organisms. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 50, p. 271-292, 2005.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v. 24, p. 63-71, 2006.

ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (Ed.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. New York: Springer, 2008. v. 5.

ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C.; SAAVEDRA, J. L. D.; LOPES, E. D. Desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) com *Zophobas confusa* Gebien (Coleoptera: Tenebrionidae) comparado a duas outras presas alternativas. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 13, p. 159-164, 1996.

