

Notas Científicas

Parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira em cultivares de algodoeiro com as proteínas Cry1Ac e Cry1F

Daniela de Lima Viana⁽¹⁾, Jacob Crosariol Netto⁽¹⁾, Oniel Jeremías Aguirre-Gil⁽¹⁾ e Antonio Carlos Busoli⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Fitossanidade, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/nº, CEP 14884-900 Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: danielaviana28@gmail.com, jacob_netto@hotmail.com, oaguirre@hotm.com, acbusoli@fcav.unesp.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de cultivares transgênicas de algodoeiro que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F, nos parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*). Lagartas neonatas foram alimentadas durante toda a fase larval com folhas de cultivares transgênicas e de suas isolinhas convencionais. Na cultivar Nuopal (Bollgard I) (Cry1Ac), 62% das lagartas sobreviveram e se transformaram em pupas normais. A cultivar FM 975 (WideStrike) (Cry1Ac e Cry1F) é letal para lagartas de primeiro instar, com 100% de mortalidade.

Termos para indexação: *Bacillus thuringiensis*, *Chrysodeixis includens*, *Gossypium hirsutum*, Bollgard I, planta geneticamente modificada, WideStrike.

Biological parameters of soybean looper in cotton cultivars with the Cry1Ac and Cry1F proteins

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effects of transgenic cotton cultivars expressing the Cry1Ac and Cry1F proteins, on the biological parameters of soybean looper (*Chrysodeixis includens*). Neonate larvae were fed during the entire larval phase with leaves from transgenic cultivars and their conventional isolines. In the Nuopal (Bollgard I) cultivar (Cry1Ac), 62% of larvae survived and became normal pupae. The FM 975 (WideStrike) cultivar (Cry1Ac and Cry1F) is lethal to first-instar larvae, with 100% mortality.

Index terms: *Bacillus thuringiensis*, *Chrysodeixis includens*, *Gossypium hirsutum*, Bollgard I, genetically modified plant, WideStrike.

O uso de plantas geneticamente modificadas com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (1911) (Bt), para proteção da planta contra espécies de lepidópteros, tem apresentado grande destaque no cenário agrícola mundial (James, 2009).

Atualmente, no Cerrado brasileiro, o algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é semeado logo após a colheita da soja (*Glycine max* L.), o que determina a permanência da lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) no campo, em razão da dispersão das mariposas para o algodoeiro (Santos, 2011).

No Brasil, a partir de 2005, houve a liberação da cultivar transgênica Nuopal (Bollgard I), que expressa a proteína Cry1Ac, para o controle de algumas espécies desfolhadoras no algodão. Para ampliar o espectro de controle contra diferentes

espécies de lepidópteros-praga e reduzir as chances de aparecimento de populações resistentes (Torres, 2008), em 2009, foi liberada a cultivar transgênica FM 975 (WideStrike), que expressa as proteínas Cry1Ac e Cry1F. No entanto, cultivares transgênicas cujo alvo são lagartas de lepidópteros na cultura do algodão não têm apresentado controle satisfatório contra a lagarta falsa-medideira, como é o caso da cultivar Nuopal (Bollgard I) que expressa a proteína tóxica Cry1Ac. De acordo com Akin et al. (2011), em condições de campo, não houve diferença na ocorrência da lagarta falsa-medideira em algodão convencional e em algodão que expressa a proteína Cry1Ac.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de cultivares transgênicas de algodoeiro que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F, nos parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira.

Os experimentos foram conduzidos entre novembro de 2012 e junho de 2013, na área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, do Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, em Jaboticabal, SP.

As cultivares transgênicas Nuopal (Bollgard I) e FM 975 (WideStrike) e suas isolinhas convencionais Delta Opal e FM 993, respectivamente, foram semeadas em área de 5.400 m², para obtenção de folhas. Os bioensaios foram mantidos em sala climatizada com temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 65±5% e fotofase de 14 horas. Para avaliar o efeito das cultivares de algodoeiro nos parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira, foram utilizadas lagartas cujos descendentes foram alimentados com folhas da cultivar FMT 701; a população foi inicialmente obtida em campos de produção de algodão, em Chapadão do Sul, MS. O experimento foi constituído por quatro tratamentos (cultivares) com 100 lagartas neonatas individualizadas (repetições), em recipientes de plástico com 6 cm de diâmetro e 5 cm de altura.

As folhas de algodoeiro foram oferecidas às lagartas e trocadas diariamente, tendo-se realizado, também, a higienização das arenas de criação. Os dados biológicos foram avaliados diariamente e calculados para obtenção dos seguintes parâmetros: duração média e viabilidade da fase larval, duração média e viabilidade da fase pupal, peso médio de lagartas aos 13 dias de idade e de pupas com 24 horas de formação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F), e as

médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com uso do programa Assisat, versão 7.7 (UFCG, Campina Grande, PB, Brasil).

As lagartas alimentadas com a cultivar transgênica FM 975 (WideStrike) apresentaram mortalidade de 100% até o segundo dia de idade (primeiro instar), o que é indicativo de alta eficiência no controle da praga, provavelmente em razão da presença das proteínas Cry1F e Cry1Ac. Tindall et al. (2009) também observaram mortalidade total da lagarta falsa-medideira alimentada com folhas de algodoeiro, cujos genes inseridos expressam as proteínas Cry1F e Cry1Ac, como é o caso da cultivar FM 975 (WideStrike).

A duração do primeiro e do segundo instar larval das lagartas alimentadas com folhas da cultivar Nuopal (Bollgard I) foi significativamente maior que a das lagartas alimentadas com as cultivares não transgênicas Delta Opal e FM 993. Quanto à duração do terceiro instar larval, não houve diferença significativa entre as cultivares (Tabela 1).

No quarto instar, a duração média das lagartas alimentadas com folhas da cultivar Nuopal (Bollgard I) foi significativamente menor que a das alimentadas com sua isolinha Delta Opal. No quinto instar e na fase de pré-pupa, a duração média não diferiu entre as lagartas alimentadas com essas cultivares (Tabela 1). Em relação à duração total da fase larval, as lagartas alimentadas com folhas da cultivar Nuopal (Bollgard I) não apresentaram diferenças significativas em comparação às alimentadas com a isolinha Delta Opal (Tabela 2). Dessa forma, pode-se constatar que a proteína Cry1Ac não influenciou a duração da fase larval da lagarta falsa-medideira.

Tabela 1. Duração média±desvio-padrão dos estádios larvais da lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) alimentada com folhas de cultivares de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) transgênico e convencional⁽¹⁾.

Cultivar	Nº de indivíduos	Fase larval (dias)					
		1º instar	2º instar	3º instar	4º instar	5º instar	Pré-pupa
Nuopal (Bollgard I)	62	4,82±0,09a	3,34±0,10a	2,95±0,11a	2,68±0,08b	3,02±0,08b	1,69±0,06ab
Delta Opal	71	4,47±0,07b	3,01±0,07b	2,89±0,10a	2,99±0,01a	3,27±0,08ab	1,75±0,05a
FM 975 (WideStrike)	0	- ⁽²⁾	-	-	-	-	-
FM 993	86	4,29±0,06b	3,00±0,07b	3,15±0,07a	2,88±0,08ab	3,40±0,08a	1,55±0,14b
Média		4,50	3,10	3,01	2,89	3,25	1,65
Teste F		13,50**	4,97**	2,36 ^{ns}	3,03*	5,46**	3,53*
CV (%)		13,74	22,69	26,47	25,57	21,32	29,66

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ⁽²⁾100% de mortalidade no primeiro instar.

Funichello et al. (2013) observaram pequeno aumento da duração da fase larval da lagarta falsa-medideira quando alimentada com folhas da cultivar Nuopal (Bollgard I). Esse resultado não foi obtido no presente trabalho, o que pode ser indicação de resistência da lagarta à proteína Cry1Ac. Adamczyk & Gore (2004) testaram a eficácia de cultivares de algodoeiro que expressavam diferentes proteínas tóxicas sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *S. exigua* (Hubner, 1808) (Lepdoptera: Noctuidae), e verificaram que cultivares que continham somente a proteína Cry1F foram mais eficientes que as que expressavam Cry1Ac e Cry1Ac mais Cry1F. Os autores concluíram que a proteína Cry1Ac utiliza os mesmos sítios receptores que a Cry1F no intestino médio das lagartas, o que reduz a eficiência de controle da cultivar que expressa essas duas toxinas piramidadas.

O fato de a lagarta falsa-medideira sobreviver em algodoeiro que expressa a proteína Cry1Ac aumenta os riscos de seleção de populações resistentes às proteínas inseticidas presentes nas cultivares. A proteína é relacionada à alta mortalidade de lagartas desfolhadoras, como *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). Ao avaliar esta espécie, Costa et al. (2011) constataram 100% de mortalidade no primeiro e no segundo instar quando a lagarta foi alimentada com folhas da cultivar Nuopal; contudo, segundo Funichello et al. (2013), a toxina presente nessa cultivar não tem causado supressão da lagarta falsa-medideira em algodão, no Centro-Oeste do Brasil, o que está de acordo com os resultados do presente trabalho.

Quanto aos efeitos das proteínas sobre o peso médio das lagartas aos 13 dias de idade, não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares avaliadas (Tabela 2). Esses resultados diferem dos obtidos por Funichello et al. (2013), que observaram maior média de peso nas lagartas alimentadas com a cultivar FM 993 aos 12 dias de idade, em relação à cultivar Nuopal e à sua isolinha Delta Opal. Isso possivelmente decorre do desenvolvimento de resistência da lagarta falsa-medideira à proteína Cry1Ac, em apenas dois anos.

O peso médio de pupas com 24 horas de formação, oriundas de lagartas alimentadas com folhas da cultivar Nuopal (Bollgard I), foi significativamente menor que o das oriundas de lagartas alimentadas com a cultivar FM 993 (Tabela 2). Esse resultado corrobora os obtidos por Funichello et al. (2013), que constataram que a proteína tóxica Cry1Ac afetou o peso de pupas com 24 horas de formação.

A seleção de populações de insetos resistentes em condições de laboratório tem mostrado rápida resposta à pressão de seleção com plantas que expressam as proteínas Bt, o que evidencia o potencial de evolução da resistência em condições de campo (Ali et al., 2006; Tabashnik et al., 2008). Essa resistência já foi verificada por Akin et al. (2011), que, em condições de campo, relataram que não houve diferença na ocorrência da lagarta falsa-medideira em algodão que expressa a proteína Cry1Ac e no convencional.

A cultivar transgênica Nuopal (Bollgard I) apresentou baixo efeito nos parâmetros biológicos

Tabela 2. Duração média±desvio-padrão e viabilidade média da fase larval e da fase de pupa, peso médio±desvio-padrão de lagartas aos 13 dias de idade e de pupas com 24 horas de formação da lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) alimentada com folhas de cultivares de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) transgênico e convencional⁽¹⁾.

Cultivar	Nº de indivíduos	Fase larval			Fase de pupa		
		Duração (dias)	Viabilidade (%)	Peso (g) ⁽²⁾	Duração (dias)	Viabilidade (%)	Peso (g)
Nuopal (Bollgard I)	62	19,04±0,22a	62b	0,1288±0,010a	7,14±0,07ab	97a	0,2595±0,004b
Delta Opal	71	18,86±0,16a	71b	0,1384±0,008a	7,28±0,06a	98a	0,2686±0,003ab
FM 975 (WideStrike)	0	- ⁽³⁾	-	-	-	-	-
FM 993	86	18,58±0,14a	86a	0,1477±0,010a	6,95±0,08b	100a	0,2759±0,003a
Média		18,80	73,00	0,1383	7,10	98,60	0,2678
Teste F		1,94 ^{ns}	7,77**	1,06 ^{ns}	5,84**	1,39 ^{ns}	5,86**
CV (%)		7,71	59,58	5,65	8,20	11,79	9,78

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. ^{ns}Não significativo. * e **Significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente. ⁽²⁾Dados transformados para (x+0,5)^{0,5}. ⁽³⁾100% de mortalidade das larvas no primeiro instar.

da lagarta falsa-medideira, uma vez que 62% das lagartas sobreviveram e se transformaram em pupas normais. Isso mostra a capacidade da praga de resistir à proteína tóxica Cry1Ac presente nas cultivares de algodão. A cultivar transgênica FM 975 (WideStrike), que expressa as proteínas tóxicas Cry1F e Cry1Ac, apresenta maior eficiência no controle da lagarta falsa-medideira, com 100% de mortalidade das larvas no primeiro instar.

Referências

- ADAMCZYK, J.J.; GORE, J. Laboratory and field performance of cotton containing Cry1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (Widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, v.87, p.427-432, 2004. DOI: 10.1653/0015-4040(2004)087[0427:LAFPOC]2.0.CO;2.
- AKIN, D.S.; STEWART, S.D.; LAYTON, M.B.; MILLS, J.A. Efficacy of cotton expressing pyramided *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins against lepidopteran pests. **Midsouth Entomologist**, v.4, p.1-13, 2011.
- ALI, M.I.; LUTTRELL, R.G.; YOUNG, S.I. Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. **Journal of Economic Entomology**, v.99, p.164-175, 2006. DOI: 10.1603/0022-0493(2006)099[0164:SOHZAH]2.0.CO;2.
- COSTA, L.L.; MARTINS, B.C.; FUNICHELLO, M.; BUSOLI, A.C. Dinâmica populacional de ovos e lagartas e parasitismo de ovos de curuquerê-do-algodoeiro por *Trichogramma pretiosum* em cultivares convencionais e transgênica de algodoeiro. **Bioscience Journal**, v.27, p.939-947, 2011.
- FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J.F.J.; SOUZA, B.H.S. de; BOIÇA JUNIOR, A.L.; BUSOLI, A.C. Effect of transgenic and non-transgenic cotton cultivars on the development and survival of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Agricultural Research**, v.8, p.5424-5428, 2013. DOI: 10.5897/AJAR2012.1760.
- JAMES, C. **Global status of commercialized biotech/GM crops**: 2009. Ithaca: ISAAA, 2009. 338p. (ISAAA Briefs. Brief, 39).
- SANTOS, W.J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o Cerrado brasileiro. In: FREIRE, E.C. (Ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil**. 2.ed. rev. e ampl. Aparecida de Goiânia: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, 2011. p.495-566.
- TABASHNIK, B.E.; GASSMANN, A.J.; CROWDER, D.A.; CARRIERE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, v.26, p.199-202, 2008. DOI: 10.1038/nbt1382.
- TINDALL, K.V.; SIEBERT, M.W.; LEONARD, B.R.; ALL, J.; HAILE, F.J. Efficacy of Cry1Ac:Cry1F proteins in cotton leaf tissue against fall armyworm, beet armyworm, and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.1497-1505, 2009. DOI: 10.1603/029.102.0414.
- TORRES, J.B. Controle de pragas do algodoeiro: expectativas de mudanças. **Ciência Agrícola**, v.8, p.37-49, 2008.

Recebido em 20 de janeiro de 2014 e aprovado em 10 de julho de 2014