

PROTEÇÃO DE PLANTAS

Herança da Resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a Lambda-Cialotrina

GABRIELA I. DIEZ-RODRÍGUEZ E CELSO OMOTO

ESALQ/USP, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Caixa postal 9, Av. Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP. E-mail: celomoto@carpa.ciagri.usp.br

Neotropical Entomology 30(2): 311-316 (2001)

Inheritance of Lambda-Cyhalothrin Resistance in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT - Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) was investigated in a strain of *S. frugiperda* showing an intensity of resistance of approximately 13-fold. Results from reciprocal crosses between susceptible (S) and resistant (R) strains of *S. frugiperda* to lambda-cyhalothrin revealed that resistance was autosomal and conferred by an incompletely recessive gene. Then, backcrosses of F₁ progenies to the R strain were performed to determine the number of genes involved in the resistance. From interpretation of chi-square analysis of responses of progenies from backcrosses suggested that the resistance was conferred by a single major gene under a influence of some minor genes.

KEY WORDS: Insecta, fall armyworm, corn, genetics of resistance, pyrethroid.

RESUMO - A herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) ao piretróide lambda-cialotrina foi determinada para uma linhagem de *S. frugiperda* apresentando uma intensidade de resistência de aproximadamente 13 vezes. Resultados dos cruzamentos recíprocos entre as linhagens suscetível (S) e resistente (R) de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina revelaram que a resistência era de caráter autosomal e incompletamente recessivo. Posteriormente, foram conduzidos retrocruzamentos da progênie F₁ (heterozigota) com o parental resistente para determinar o número de genes envolvidos na resistência. Mediante análise do teste do qui-quadrado das respostas das progênies dos retrocruzamentos à lambda-cialotrina sugere-se que a resistência seja determinada por um gene principal sob a influência de genes secundários.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, lagarta-do-cartucho, milho, resistência a inseticidas, piretróide.

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), é uma das principais pragas da cultura do milho no Brasil (Cruz 1995). O problema no controle desta praga tem aumentado principalmente com a introdução do milho "safrinha" e ao plantio de milho na época de inverno em algumas localidades com infra-estrutura de irrigação. Como *S. frugiperda* pode atacar o milho em qualquer época do ano, a frequência e a intensidade de uso de inseticidas têm aumentado bastante nos últimos anos e fracassos no controle de *S. frugiperda* com inseticidas tradicionais (piretróides e organofosforados) têm sido periodicamente relatados. Recentemente, a resistência de *S. frugiperda* ao piretróide lambda-cialotrina foi detectada em populações desta praga na cultura do milho no Brasil (dados não publicados).

Estudos para determinar as bases genéticas da resistência

de pragas a pesticidas são essenciais para a melhor compreensão da evolução da resistência e posterior elaboração e refinamento de estratégias de manejo da resistência (Roush & Daly 1990, Tabashnik 1991, McKenzie 2000). Essas informações podem ser exploradas na detecção e monitoramento da resistência, na avaliação de custo adaptativo associado à resistência, nos estudos de resistência cruzada, na avaliação do potencial de risco de resistência e nos modelos de simulação de evolução da resistência (Roush & McKenzie 1987, Roush & Daly 1990, Tabashnik 1991).

A herança da resistência a piretróides não apresenta um padrão para lepidópteros, possivelmente devido à existência de diferentes mecanismos de resistência nas linhagens estudadas e suas possíveis interações (Yu, 1993; Tan & McCaffery 1999). Casos de resistência incompletamente

recessiva e monogênica foram detectados, por exemplo, para *Heliothis virescens* (Fabr.) a permetrina (Payne *et al.* 1988), *Plutella xylostella* L. a permetrina (Yu 1993) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) a fenvalerate (Tan & McCaffery 1999). Por outro lado, casos de resistência intermediária ou incompletamente dominante e monogênica já foram detectados para *H. virescens* a cipermetrina (Elzen *et al.* 1994), *Pectinophora gossypiella* (Saunders) a permetrina (Osman *et al.* 1992) e *H. armigera* a fenvalerate (Daly & Fisk 1992, 1993).

Para melhor compreensão da evolução da resistência de *S. frugiperda* a lambda-cialotrina nas condições brasileiras, o objetivo deste trabalho foi o de caracterizar as bases genéticas desta resistência. Inicialmente foram realizados cruzamentos recíprocos para determinar o grau de dominância e se a resistência é autossômica ou não. Posteriormente, foi conduzida uma série de cruzamentos controlados para definir se a resistência é monogênica ou poligênica. Implicações dos resultados obtidos são discutidos dentro do contexto de manejo da resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina.

Material e Métodos

Linhagens de *S. frugiperda*. Duas linhagens de *S. frugiperda*, uma suscetível e outra resistente ao inseticida lambda-cialotrina, foram utilizadas no presente estudo. Uma população de *S. frugiperda* que vinha sendo mantida em laboratório na ausência de pressão seletiva com inseticidas há mais de cinco anos foi tomada como a linhagem suscetível de referência (S). A linhagem de *S. frugiperda* resistente à lambda-cialotrina (R) foi obtida através da seleção com esse inseticida em condições laboratoriais, a partir de uma população coletada na cultura de milho na região de Guaíra, SP na safra de 1997/1998. A seleção foi realizada com concentrações crescentes do inseticida em seis ciclos de seleção, sendo que inicialmente foi utilizada a CL₉₅ da linhagem S. Os indivíduos sobreviventes a cada ciclo de seleção foram utilizados para estabelecer colônias com a finalidade de obter indivíduos resistentes homozigotos.

Procedimentos de Bioensaio. O método de bioensaio adotado foi o de aplicação tópica. Os bioensaios foram realizados com lagartas de 3º ínstar, aplicando-se 1 ml de solução do inseticida técnico lambda-cialotrina (pureza de 87,39%, Zeneca Brasil Ltda.) diluído em acetona. A aplicação foi feita na região protorácica com o auxílio de um microaplicador automático (Burkard Manufacturing Company Ltd., Rickmansworth, Reino Unido). Em seguida, as lagartas foram transferidas para copos descartáveis (100 ml) contendo dieta artificial. As lagartas foram mantidas em câmara climatizada à temperatura de 25±1°C e fotofase de 14h. A mortalidade foi avaliada 24h após a aplicação do inseticida.

Genética da Resistência. Inicialmente foi realizada a caracterização da resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina através da obtenção da curva de concentração-resposta a partir de seis a sete concentrações de lambda-cialotrina que proporcionassem mortalidade entre 5% e 99%

para as linhagens S e R. Os dados de mortalidade para as duas linhagens foram submetidos à análise de Probit através do programa POLO-PC (LeOra Software 1987). A razão de resistência foi determinada através da divisão da CL₅₀ da linhagem R pela CL₅₀ da linhagem S.

Para o estudo da herança da resistência, pupas das linhagens S e R foram sexadas e mantidas separadamente em placas de Petri contendo vermiculita e tampadas por um copo de plástico transparente. À medida que os adultos foram emergindo, cruzamentos recíprocos entre 10 casais (R fêmea x S macho e S fêmea x R macho), foram realizados em gaiolas para acasalamento (tubos de PVC de 10 cm de diâmetro e 20 cm de altura). As progênies dos cruzamentos recíprocos (F₁) foram submetidas a bioensaios para a caracterização das curvas de concentração-resposta para lambda-cialotrina e estimativa das CL₅₀s. A possibilidade de a resistência estar ligada ao sexo ou sob efeito maternal foi verificada através da análise dos resultados obtidos nos cruzamentos recíprocos. O grau médio de dominância da resistência foi estimado através da comparação das CL₅₀s das progênies F₁ em relação às CL₅₀s das linhagens parentais, a partir da seguinte fórmula apresentada por Stone (1968):

$$D = \frac{2X_3 - X_2 - X_1}{X_2 - X_1}$$

onde: D= grau médio de dominância, X₁= log₁₀ (CL₅₀) da linhagem S, X₂= log₁₀ (CL₅₀) da linhagem R e X₃= log₁₀ (CL₅₀) da linhagem híbrida F₁

Para estimar o número de genes envolvidos na resistência, foram realizados retrocruzamentos da progênie F₁ com o parental apresentando o fenótipo mais distinto de F₁ (Tsukamoto 1983, Roush & Daly 1990). A possibilidade de herança monogênica foi testada através do teste do χ^2 entre os dados de mortalidade observada e esperada do retrocruzamento de F₁ com um dos parentais. A mortalidade esperada do retrocruzamento a uma determinada concentração foi calculada através da soma da metade da mortalidade da progênie F₁ mais a metade da mortalidade da linhagem parental nesta mesma concentração (Preisler *et al.* 1990, Tabashnik 1991, Tabashnik *et al.* 1992).

Resultados e Discussão

As CL₅₀s estimadas para as linhagens S e R foram de 9,2 mg de lambda-cialotrina/ml de acetona [ppm (I.A.)] e 118,5 ppm (I.A.), respectivamente (Tabela 1). Baseada na CL₅₀, a razão de resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina foi de 12,9. Não foram observadas diferenças nas respostas a lambda-cialotrina para as progênies F₁ híbridas obtidas a partir dos cruzamentos recíprocos entre as linhagens suscetível S e resistente R (Tabela 1). Foi verificada uma sobreposição dos intervalos de confiança das CL₅₀s e, também, a igualdade dos coeficientes angulares estimados para as progênies F₁ recíprocas, através da análise de Probit. Isso permitiu concluir que a resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina é autossômica e não ligada ao sexo ou sob efeito maternal (Uyenoyama 1986, Roush & Daly 1990).

Os graus médios de dominância (D) obtidos foram de -0,43 para o híbrido (R fêmea x S macho) e de -0,28 para o

Tabela 1. Respostas de concentração-mortalidade das linhagens S, R e F_1 resultantes de cruzamentos recíprocos entre as linhagens S e R de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina.

Linhagem	n ^a	CL ₅₀ (95%IC) ppm i.a.	Coefficiente angular (\pm EP)	χ^2	g.l. ^b
S	2401	9,2(5,8-13,4)	1,35 \pm 0,07	18,3	4
R	3602	118,5(87,7-156,9)	1,62 \pm 0,06	24,3	5
F_1 (R fêmea x S macho)	3685	18,9(15,5-22,7)	1,67 \pm 0,07	19,2	7
F_1 (S fêmea x R macho)	2451	22,9(19,6-26,7)	1,67 \pm 0,10	6,27	5

^anúmero de indivíduos testados

^bgraus de liberdade

híbrido (S fêmea x R macho); evidenciando que a resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina é incompletamente recessiva (Fig. 1). A suscetibilidade à lambda-cialotrina das

alguns genes secundários. Estes desvios também foram relatados por Halliday & Georghiou (1985), Roush *et al.* (1986), Payne *et al.* (1988) e Osman *et al.* (1992), onde as

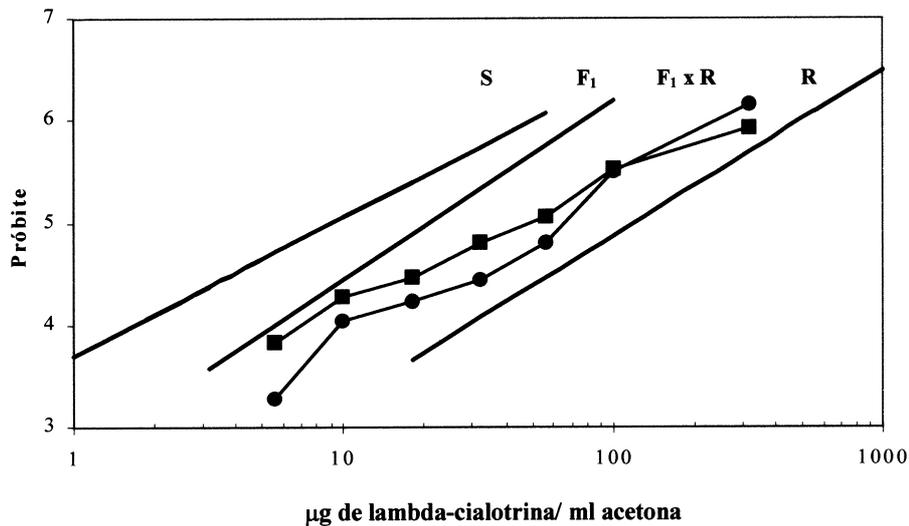


Figura 1. Curvas de concentração-resposta ao inseticida lambda-cialotrina para as linhagens de *S. frugiperda* suscetível (S), resistente (R), progênie de F_1 e retrocruzamento ($F_1 \times R$). Mortalidades esperadas e observadas nos retrocruzamentos são representadas pelos símbolos ● e ■, respectivamente.

progênie F_1 recíprocas foi mais próxima à da linhagem S.

A hipótese de herança monogênica para a resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina foi confirmada mediante a análise das proporções de segregação dos retrocruzamentos da progênie F_1 com o parental resistente. As mortalidades observadas nos retrocruzamentos ($F_1 \times R$) não foram significativamente diferentes das mortalidades esperadas ($\chi^2 < 3,84$; g.l.=1; $P > 0,05$), exceto para as concentrações de 3,2; 32; 56 e 320 ppm (Tabela 2 e Fig. 1).

Valores de qui-quadrado significativamente altos para algumas concentrações testadas, podem ser um indicio de fatores de variabilidade adicionais influenciando a resistência (Preisler *et al.* 1990). Portanto, os desvios observados sugerem que a resistência de *S. frugiperda* a lambda-cialotrina é determinada por um gene principal sob a influência de

mortalidades observadas nas concentrações mais baixas foram menores do que as esperadas, porém maiores nas concentrações mais altas. De acordo com Roush & McKenzie (1987), há uma melhor discriminação entre genótipos no laboratório, o que possibilita a manifestação do efeito de genes secundários; porém a resistência de pragas a pesticidas em agroecossistemas é devido principalmente ao efeito do gene principal.

Frequentemente um patamar ao redor do 50% de mortalidade na curva de concentração-resposta das progênie desse retrocruzamento é observada nos casos de herança monogênica da resistência (Tsukamoto 1983, Roush & Daly 1990). Porém, como foi observado uma certa sobreposição nas curvas de concentração-mortalidade para as linhagens S e R, este patamar não foi observado (Fig. 1). Nesse caso, o

Tabela 2. Qui-quadrado entre as mortalidades observadas e esperadas dos retrocruzamentos ($F_1 \times R$) para o modelo monogênico ($g.l.=1$).

Concentração(mg/ml)	$F_1 \times R$		
	Mortalidade observada (%)	Mortalidade esperada (%) ^a	χ^2
3,2	4,49	9,26	8,46*
5,6	8,33	12,30	0,70
10	20,07	22,84	1,24
18	25,00	28,86	1,49
32	31,47	42,17	6,72*
56	44,00	52,23	7,47*
100	70,49	69,93	0,03
320	88,18	82,07	7,72*

^aMortalidade esperada na concentração $A=0,5$ (% mortalidade de F_1 em A + % mortalidade de R em A).

* $P < 0,05$.

uso de marcadores moleculares poderia ser útil para a clarificação da herança monogênica (Roush & Daly 1990).

A herança da resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina foi identificada como autossômica e recessiva no presente estudo. A evolução da resistência tende a ser retardada quando a herança é recessiva (Georghiou & Taylor 1977, Roush & McKenzie 1987); porém uma vez que a resistência atinge uma alta frequência, o restabelecimento da suscetibilidade na ausência da pressão seletiva (i.e., decréscimo na frequência de resistência) pode se tornar mais demorado, pois os indivíduos resistentes que sobrevivem à aplicação de um inseticida seriam todos homozigotos. Por outro lado, se a resistência fosse dominante, os indivíduos heterozigotos (que apresentam o fenótipo resistente) poderiam contribuir para o restabelecimento da suscetibilidade pelo fato de carregarem o alelo que confere a suscetibilidade.

Em geral, a recessividade da resistência a piretróides tem sido associada ao mecanismo de resistência por insensibilidade do alvo de ação (Liu *et al.* 1981, Payne *et al.*, 1988, Yu 1993, Tan & McCaffery 1999). O mecanismo de resistência de *S. frugiperda* à lambda-cialotrina não foi estudado na presente pesquisa; porém, caso a resistência seja devido à insensibilidade do alvo de ação (devido à recessividade da resistência), todos os piretróides estariam comprometidos através da resistência cruzada. Por outro lado, o restabelecimento da suscetibilidade poderia ser favorecido devido à alta habilidade migratória de *S. frugiperda* (Pashley *et al.* 1985), associado ao seu hábito polífago, o que aumentaria a possibilidade de imigração de indivíduos suscetíveis de outras áreas e/ou culturas não tratadas com inseticidas.

Devido ao aumento da pressão de seleção com inseticidas, principalmente em regiões onde se cultiva o milho o ano inteiro, o problema da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas tenderá a agravar no Brasil. Sendo assim, estratégias de manejo da resistência devem ser implementadas com urgência para preservar a vida útil de lambda-cialotrina (e de outros inseticidas) através de um programa de

monitoramento da suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* aos principais inseticidas recomendados para o seu controle e de orientação de agricultores e técnicos com relação à adoção da rotação de inseticidas baseado no seu modo de ação, além de outras recomendações do MIP. Para tanto, há necessidade de um trabalho cooperativo envolvendo as universidades e instituições de pesquisa, empresas químicas, consultores e agricultores.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa (Processo #1997/5238-0) e pela concessão da bolsa de estudo para G. I. Diez-Rodríguez (Processo #1998/02937-8).

Literatura Citada

- Cruz, I. 1995.** Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas. Campinas, 170p.
- Daly, J.C. & J.H. Fisk. 1992.** Inheritance of metabolic resistance to the synthetic pyrethroids in australian *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Bull. Entomol. Res. 82: 5-12.
- Daly, J.C. & J.H. Fisk. 1993.** Expression of pyrethroid resistance in adult *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and selective mortality in field populations. Bull. Entomol. Res. 83: 23-28.
- Elzen, G.W., S.H. Martin, B.R. Leonard & J.B. Graves. 1994.** Inheritance, stability, and reversion of insecticide resistance in tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) field populations. J. Econ. Entomol. 87: 551-558.
- Georghiou, G.P. 1983.** Management of resistance in arthropods, p. 769-792. In G.P. Georghiou & T. Saito

- (eds.), Pest resistance to pesticides. New York, Plenum, 809p.
- Georghiou, G.P. & C.E. Taylor. 1977.** Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319-323.
- Halliday, W.R. & G.P. Georghiou. 1985.** Inheritance of resistance to permethrin and DDT in the southern house mosquito (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.* 78: 762-767.
- Holloway, G.J. 1986.** A theoretical examination of the classical theory of inheritance of insecticide resistance and the genetics of time to knockdown and dry body weight in *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Bull. Entomol. Res.* 76: 661-670.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Or LOGit analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.
- Liu, M.Y., Y.J. Tzeng & C.N. Sun. 1981.** Diamondback moth resistance to several synthetic pyrethroids. *J. Econ. Entomol.* 74: 393-396.
- McDonald, P.T. & C.D. Schmidt. 1987.** Genetics of permethrin resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 433-437.
- McKenzie, J.A. 1996.** Ecological and evolutionary aspects of insecticide resistance. Austin, Academic Press, 185 p.
- McKenzie, J.A. 2000.** The character or the variation: the genetic analysis of the insecticide-resistance phenotype. *Bull. Entomol. Res.* 90: 3-7.
- Metcalf, R.L. 1983.** Implications and prognosis of resistance to insecticides, p. 703-733. In G.P. Georghiou & T. Saito (eds.), Pest resistance to pesticides. New York, Plenum, 809p.
- Osman, A.A., T.F. Watson & S. Sivasupramaniam. 1992.** Inheritance of permethrin resistance in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 335-339.
- Pashley, D.P., S.J. Johnson & A.N. Sparks. 1985.** Genetic population structure of migratory moths: The fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 756-762.
- Payne, G.T., R.G. Blenk & T.M. Brown. 1988.** Inheritance of permethrin resistance in the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 65-73.
- Plapp Jr., F.W., C.R. Browning & P.J.H. Sharpe. 1979.** Analysis of the rate of development of insecticide resistance based on simulation of a genetic model. *Environ. Entomol.* 8: 494-500.
- Preisler, H.K., M.A. Hoy & J.L. Robertson. 1990.** Statistical analysis of modes of inheritance for pesticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 83: 1649-1655.
- Roush, R.T. 1989.** Designing resistance management programs: how can you choose? *Pestic. Sci.* 26: 423-441.
- Roush, R.T. & J.A. McKenzie. 1987.** Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 361-380.
- Roush, R.T. & J.C. Daly. 1990.** The role of population genetics in resistance research and management, p. 97-152. In R.T. Roush & B.E. Tabashnik (eds.), Pesticide resistance in arthropods. New York, Chapman and Hall, 303p.
- Roush, R.T., R.L. Combs, T.C. Randolph, J.M. McDonald & J.A. Hawkins. 1986.** Inheritance and effective dominance of pyrethroid resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 1178-1182.
- Stone, B.F. 1968.** A formula for determining the degree of dominance in cases of monofactorial inheritance of resistance to chemicals. *Bull. W.H.O.* 38: 325-326.
- Tabashnik, B.E. 1991.** Determining the mode of inheritance of pesticide resistance with backcross experiments. *J. Econ. Entomol.* 84: 703-712.
- Tabashnik, B.E. & B.A. Croft. 1982.** Managing pesticide resistance in crop-arthropod complexes: interactions between biological and operational factors. *Environ. Entomol.* 11: 1137-1144.
- Tabashnik, B.E., J.M. Schwartz, N. Finson & M.W. Johnson. 1992.** Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1046-1055.
- Tan, J.G. & A.R. McCaffery. 1999.** Expression and inheritance of nerve insensitivity resistance in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *Pestic. Sci.* 55: 617-625.
- Tsukamoto, M. 1983.** Methods of genetic analysis of insecticide resistance, p. 71-98. In Georghiou, G.P. & T. Saito (eds.), Pest resistance to pesticides. New York, Plenum, 809p.
- Uyenoyama, M.K. 1986.** Pleiotropy and the evolution of genetic systems conferring resistance to pesticides, p.

207-221. In: National Research Council. Pesticide resistance: strategies and tactics for management. Washington, National Academy Press, 471 p.

Whitten, C.J. 1978. Inheritance of methyl parathion resistance in tobacco budworm larvae. *J. Econ. Entomol.* 71: 971-974.

Yu, S.J. 1993. Inheritance of insecticide resistance and microsomal oxidases in the diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). *J. Econ. Entomol.* 86: 680-683.

Recebido em 25/07/2000. Aceito em 19/03/2001.
