



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS PROFESSORA CINOBELINA ELVAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ANA CLARA MARCELINO DE MOURA

**SUSCETIBILIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO A COMBINAÇÕES DE
PROTEÍNAS Cry e Vip3A EM CULTIVARES DE MILHO E ALGODÃO BT**

Bom Jesus - PI

2025

ANA CLARA MARCELINO DE MOURA

**SUSCETIBILIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO A COMBINAÇÕES DE
PROTEÍNAS Cry e Vip3A EM CULTIVARES DE MILHO E ALGODÃO BT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA, Campus Professora Cinobelina Elvas - CPCE, da Universidade Federal do Piauí - UFPI, na área de concentração Produção Vegetal, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciana Barboza Silva

Bom Jesus - PI

2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial Campus Professora Cinobelina Elvas
Setor de Processamento Técnico

M929s Moura, Ana Clara Marcelino de.

Suscetibilidade da lagarta-do-cartucho a combinações de proteína Cry e Vip3A em cultivares de milho e algodão BT. / Ana Clara Marcelino de Moura. -- 2025.
58 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Bom Jesus, Piauí, 2025.
“Orientadora: Profa. Dra. Luciana Barboza Silva”.

1. Ciências agrárias. 2. Culturas transgênicas. 3. Proteínas inseticidas. I. Silva, Luciana Barboza. II. Título.

CDD 630

Bibliotecária: Nayra Fontinele Feijão – CRB3/1249

ANA CLARA MARCELINO DE MOURA

**SUSCETIBILIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO A COMBINAÇÕES DE
PROTEÍNAS Cry e Vip3A EM CULTIVARES DE MILHO E ALGODÃO BT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA, do Campus Professora Cinobelina Elvas - CPCE, da Universidade Federal do Piauí - UFPI, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Área de concentração: Produção Vegetal.

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Luciana Barboza Silva

Aprovada em: 03/09/2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA BARBOZA SILVA**
Data: 16/12/2025 10:03:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Luciana Barboza Silva (UFPI)
Orientadora

Dr. Alisson Franco Torres da Silva (UFPI)
Examinador Externo ao Programa

Prof. Dr. Jenilton Gomes da Cunha (UFPI)
Examinador Interno ao Programa

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANE MODENEZ SALDIVAR XAVIER**
Data: 16/12/2025 21:41:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Luciane Modenez Saldivar Xavier (IFB)
Examinadora Externa ao Programa

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, pela força e pela sabedoria concedida em cada etapa desta jornada, iluminando meus caminhos e me dando serenidade diante dos desafios.

À minha família, pelo apoio incondicional e por sempre acreditarem em mim. Em especial à minha mãe, Francisca, pelo amor, dedicação e incentivo constantes, e aos meus avós, Maria dos Anjos e Silvério, exemplos de força e inspiração em minha vida.

Ao meu companheiro de vida, Fernando, pela paciência, compreensão e apoio incansável durante todos os momentos dessa caminhada, dividindo comigo as dificuldades e celebrando cada conquista.

Aos colegas de laboratório, que se tornaram grandes amigos e fizeram parte desta trajetória, meu sincero agradecimento a Sara, Thayline, Maria, Daniel, João e Kauan. A convivência, a amizade e a parceria de vocês tornaram esse processo mais leve e enriquecedor.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Luciana Barboza, pela orientação, dedicação e confiança, guiando-me com sabedoria e contribuindo de forma fundamental para meu crescimento acadêmico e profissional.

À Universidade Federal do Piauí - *Campus* Cinobelina Elvas (CPCE) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (PPGCA), pela oportunidade de realização deste mestrado, e à CAPES, pela concessão da bolsa que possibilitou minha dedicação integral à pesquisa.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo aqui minha gratidão.

RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) é uma das principais pragas da agricultura tropical, ocasionando elevados prejuízos econômicos, sobretudo em lavouras de milho *Zea mays* L., e algodão *Gossypium hirsutum* L. O cultivo de plantas geneticamente modificadas para expressar proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) consolidou-se como uma ferramenta essencial no manejo deste inseto. Entretanto, a rápida evolução da resistência tem comprometido a eficácia e a sustentabilidade dessa tecnologia de manejo. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes piramidações de proteínas Bt (Cry1, Cry2 e Vip3A) em cultivares de milho e algodão Bt. Os bioensaios de tempo-mortalidade foram conduzidos com larvas de terceiro ínstar, provenientes de populações de campo coletadas na Fazenda Estrela na serra do Quilombo no município de Bom Jesus- Pi (Latitude: -9,216754; Longitude: -44,916791). Essas lagartas foram mantidas em uma criação no Laboratório de Proteção de Plantas- UFPI/CPCE para obtenção das gerações a serem utilizadas no estudo. Para a realização dos bioensaios as lagartas foram alimentadas com folhas de cultivares que expressaram distintas combinações de proteínas Bt. Assim, para os cultivares de milho foram avaliados sete tratamentos, incluindo o tratamento controle: (1) Não-Bt (controle); (2) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1; (3) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa; (4) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2; (5) Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa; (6) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3A e (7) Cry1Ab + Vip3A, e para o algodão foram conduzidos cinco tratamentos: (1) Não-Bt (controle); (2) Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A; (3) Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A; (4) Cry1F + Cry1Ac + Vip3A e (5) Cry1Ac + Cry2Ab2, totalizando doze tratamentos com 6 repetições cada. A análise estatística foi realizada por meio de GLM e teste de Duncan ($p < 0,05$), com curvas de sobrevivência estimadas pelo método de log-rank e valores de ST_{50} , no software R. Os resultados demonstraram que as piramidações contendo Vip3A apresentaram eficiência na mortalidade significativamente superior. No algodão, a combinação Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A destacou-se, atingindo 50% de mortalidade após três dias. No milho, as piramidações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 foram as mais eficazes, com mortalidade final entre 68% e 66%, respectivamente. Em contraste, combinações contendo Cry1F exibiram baixa eficácia de mortalidade, o que indica resistência já estabelecida em populações de campo. Esses resultados evidenciaram que a proteína Vip3A é essencial para a durabilidade das tecnologias Bt, devido ao modo de ação e à ausência de resistência cruzada com proteínas Cry, o que pode ser priorizada em estratégias de piramidação integradas ao manejo sustentável de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, Culturas transgênicas, Lagarta-do-cartucho, Proteínas inseticidas, Resistência de insetos.

ABSTRACT

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) is one of the main pests of tropical agriculture, causing severe economic losses, especially in maize (*Zea mays* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) crops. The cultivation of genetically modified plants expressing insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* (Bt) has become an essential tool in the management of this pest. However, the rapid evolution of resistance has compromised the effectiveness and sustainability of this management technology. This study aimed to evaluate the efficiency of different Bt protein pyramids (Cry1, Cry2, and Vip3A) in Bt maize and cotton cultivars. Time–mortality bioassays were conducted with third-instar larvae from field populations collected at Fazenda Estrela, Serra do Quilombo, in the municipality of Bom Jesus, Piauí, Brazil (Latitude: -9.216754; Longitude: -44.916791). These larvae were maintained in a colony at the Plant Protection Laboratory – UFPI/CPCE to obtain the generations used in the study. For the bioassays, larvae were fed with leaves from cultivars expressing different combinations of Bt proteins. For maize cultivars, seven treatments were evaluated, including the control: (1) Non-Bt (control); (2) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1; (3) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa; (4) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2; (5) Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa; (6) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3A; and (7) Cry1Ab + Vip3A. For cotton cultivars, five treatments were tested: (1) Non-Bt (control); (2) Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A; (3) Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A; (4) Cry1F + Cry1Ac + Vip3A; and (5) Cry1Ac + Cry2Ab2 - totaling twelve treatments with six replicates each. Statistical analysis was performed using a GLM and Duncan's test ($p < 0.05$), with survival curves estimated by the log-rank method and ST_{50} values calculated using R software. The results showed that pyramids containing Vip3A were significantly more efficient in causing larval mortality. In cotton, the Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A combination stood out, reaching 50% mortality after three days. In maize, the Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa and Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 pyramids were the most effective, with final mortality rates of 68% and 66%, respectively. In contrast, combinations containing Cry1F exhibited low mortality efficacy, indicating that resistance to this protein is already established in field populations. These results demonstrate that the Vip3A protein is essential for the durability of Bt technologies due to its distinct mode of action and the absence of cross-resistance with Cry proteins, making it a priority in Bt pyramiding strategies integrated into the sustainable management of *S. frugiperda*.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, Fall armyworm, Insecticidal proteins, Insect resistance, Transgenic crops.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (<i>Spodoptera frugiperda</i>) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de algodão Bt expressando proteínas Vip3Aa/Cry Bt.....	35
Figura 2 -	Mortalidade acumulada (%) de <i>Spodoptera frugiperda</i> ao longo de sete dias de alimentação com folhas de algodão Bt.....	36
Figura 3 -	Mortalidade (%) de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada com cultivares de algodão Bt expressando as proteínas Vip3A/Cry.....	37
Figura 4 -	Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (<i>Spodoptera frugiperda</i>) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de milho Bt expressando proteínas Vip3Aa/Cry Bt.....	48
Figura 5 -	Mortalidade acumulada (%) de <i>Spodoptera frugiperda</i> ao longo de sete dias de alimentação com cultivares de milho Bt.....	49
Figura 6 -	Mortalidade (%) de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada com híbridos de milho Bt expressando as proteínas Vip3A/Cry.....	50
Figura 7 -	Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (<i>Spodoptera frugiperda</i>) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de algodão e milho expressando proteínas Vip3Aa/Cry Bt.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cultivares de algodão utilizados no estudo, suas respectivas proteínas inseticidas expressas e a tecnologia Bt associada	33
Tabela 2 - Tempo letal mediano (TL_{50}), em dias, para 50% de mortalidade de <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta a diferentes combinações de proteínas Bt.....	35
Tabela 3 - Cultivares de milho utilizados no estudo, suas respectivas proteínas inseticidas expressas e a tecnologia Bt associada.....	46
Tabela 4 - Tempo letal mediano (TL_{50}), em dias, para 50% de mortalidade de <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta a diferentes combinações de proteínas Bt.....	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2	ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL.....	13
3	CAPÍTULO 1: REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	14
3.1	<i>Spodoptera frugiperda</i>	14
3.2	<i>Bacillus thuringiensis</i> e as proteínas Bt.....	15
3.3	Cultivares Bt e a resistência de insetos.....	17
3.4	Manejo de resistência à tecnologia Bt.....	19
	REFERÊNCIAS.....	21
4	CAPÍTULO 2: EFICIÊNCIA DE PIRAMIDAÇÕES BT NO CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM ALGODÃO BT.....	30
	RESUMO.....	30
4.1	Introdução.....	31
4.2	Material e Métodos.....	32
4.2.1	Populações de insetos.....	32
4.2.2	Cultivares de algodão Bt.....	33
4.2.3	Bioensaio foliar, tempo-mortalidade.....	33
4.2.4	Análises estatísticas.....	34
4.3	Resultados.....	34
4.4	Discussão.....	37
4.5	Conclusão.....	39
	REFERÊNCIAS.....	39
5	CAPÍTULO 3: IMPACTO DE EVENTOS BT PIRAMIDADOS SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM MILHO.....	43
	RESUMO.....	43
5.1	Introdução.....	44
5.2	Material e Métodos.....	45
5.2.1	Populações de insetos.....	45
5.2.2	Cultivares de milho Bt.....	46
5.2.3	Bioensaio foliar, tempo-mortalidade.....	47
5.2.4	Análises estatísticas.....	47
5.3	Resultados.....	48

5.4	Discussão.....	51
5.5	Conclusão.....	53
	REFERÊNCIAS.....	54
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	57

1 INTRODUÇÃO GERAL

O controle de insetos-praga permanece como um dos maiores desafios da agricultura em escala global, visto que essas espécies podem comprometer de forma significativa a produtividade e a qualidade das culturas agrícolas. Entre as pragas de maior relevância econômica, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-do-cartucho, destaca-se por sua ampla distribuição geográfica, elevada capacidade de dispersão e comportamento altamente polífago, alimentando-se de diversas espécies vegetais de interesse agrícola (Fatoretto *et al.*, 2017; Prasanna *et al.*, 2022). Essas características, associadas ao comportamento migratório e à capacidade adaptativa, contribuem para sua sobrevivência em diferentes ecossistemas, dificultando o seu manejo.

No Brasil, o controle de *S. frugiperda* é realizado predominantemente por meio do cultivo de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas inseticidas derivadas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), como as proteínas Cry e Vip3Aa, frequentemente associado ao uso complementar de inseticidas químicos (Burtet *et al.*, 2017; Muraro *et al.*, 2019; Moscardini *et al.*, 2020). As culturas Bt consolidaram-se como ferramentas essenciais dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP), oferecendo controle seletivo, redução da dependência de defensivos químicos e mitigação de impactos ambientais, ao mesmo tempo em que preservam organismos não alvo (Romeis *et al.*, 2018; ISAAA, 2025).

Entretanto, o uso contínuo e extensivo dessa tecnologia exerce intensa pressão de seleção sobre as populações de insetos, favorecendo a evolução de resistência. Diversos relatos de falhas de controle em condições de campo já foram documentados para diferentes eventos Bt, em especial aqueles contendo a proteína Cry1F (Storer *et al.*, 2010; Farias Júnior *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2014; Omoto *et al.*, 2016; Chandrasena *et al.*, 2018; Sanchez; Wise, 2023). Os primeiros casos de resistência de *S. frugiperda* a proteínas Bt foram relatados para o evento contendo Cry1F, sendo detectados após alguns anos de sua comercialização (Farias Júnior *et al.*, 2014; Fatoretto *et al.*, 2017).

A rápida evolução da resistência de *S. frugiperda* a tecnologia Bt tem sido favorecida, principalmente, pela escassez de adoção de práticas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) e Manejo da Resistência a Insetos (MRI), com destaque para a implementação inadequada ou inexistente de áreas de refúgio (Cultivo não Bt), bem como pela utilização de eventos Bt que apresentam reduzida expressão das toxinas isoladas (Tabashnik; Van Rensburg; Carrière, 2009; Huang *et al.*, 2011; Bernardi *et al.*, 2015). Esses fatores reduzem a eficácia da tecnologia e aumentam o risco de seleção de alelos de resistência nas populações de campo.

Para minimizar esse processo, foram desenvolvidas estratégias de piramidação, que combinam duas ou mais proteínas inseticidas com modos de ação distintos em uma mesma planta Bt, ampliando o espectro de controle e dificultando a adaptação das populações-alvo (Carrière; Fabrick; Tabashnik, 2016; Yang *et al.*, 2018; Shwe et al., 2021). Atualmente, híbridos de milho e cultivares de algodão que expressam combinações de Vip3Aa e proteínas Cry têm sido amplamente utilizados e eficazes contra *S. frugiperda*.

Diante da contínua exposição das populações de *S. frugiperda* às proteínas Bt e do risco crescente de evolução da resistência, torna-se indispensável o monitoramento sistemático da suscetibilidade da praga. Esse acompanhamento permite detectar precocemente alterações no padrão de resposta desse inseto às toxinas, subsidiando ajustes nas estratégias de manejo e prolongando a eficácia da tecnologia. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de uma população de *S. frugiperda*, coletada em uma região produtora do Brasil e mantida em laboratório na ausência de pressão de seleção, às proteínas Cry e Vip expressas em cultivares Bt de milho (*Zea mays* L.) e algodão (*Gossypium hirsutum* L.).

2 ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL

A estratégia experimental adotada teve como objetivo avaliar a mortalidade e o tempo de sobrevivência de larvas de *S. frugiperda* submetidas a cultivares Bt e não Bt de milho e algodão. Assim, larvas de terceiro instar foram coletadas em campo e mantidas em condições controladas de laboratório até atingirem o estágio adequado para os bioensaios.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 12 tratamentos correspondentes aos diferentes cultivares (sete de milho e cinco de algodão), cada um com seis repetições. Cada repetição foi composta por 16 larvas, totalizando 1.152 indivíduos avaliados.

Durante os bioensaios as larvas foram alimentadas com seções de folhas frescas dos respectivos cultivares, sendo monitoradas periodicamente para registro da mortalidade. Os dados foram analisados por meio de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição binomial, testes de log-rank para comparação das curvas de sobrevivência e estimativas dos tempos medianos de sobrevivência (ST50), com intervalos de confiança de 95%. Todas as análises estatísticas foram realizadas no *software* R.

3 CAPÍTULO 1

REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma espécie nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas, foi relatada pela primeira vez na África em 2016 (Goergen *et al.*, 2016; Cedo *et al.*, 2018) e na Ásia em 2018 (Sharanabasappa *et al.*, 2018; Navasero *et al.*, 2019), e amplamente distribuída em mais de 80 países nas Américas, África, Europa, Ásia e Austrália (Montezano *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2020; Ye *et al.*, 2022). Esse inseto-praga é polífago, alimentando-se de mais de 350 espécies de plantas (Nagoshi *et al.*, 2015) e compromete a produtividade de importantes culturas como milho, arroz, soja e algodão (Montezano *et al.*, 2018; Nagoshi; Meagher, 2022).

A ampla quantidade de hospedeiros de *S. frugiperda* ocorreu, parcialmente devido a herbivoria em duas linhagens simpátricas de plantas hospedeiras: a "linhagem do milho" (C-strain), que se alimenta principalmente de milho, algodão e sorgo, e a "linhagem do arroz" (R-strain), associada principalmente ao arroz e a várias gramíneas de pastagem (Nagoshi; Meagher, 2022). Esses lepidópteros apresentam desenvolvimento holometábolo, (ovo (2 a 3 dias), fase larval seis instares (13 a 14 dias), pupa (7 a 8 dias) e adultos (7 a 21 dias)) (Prasanna *et al.* 2018; Sharanabasappa *et al.*, 2018). O ciclo de vida é de aproximadamente 30 a 40 dias (verão-meses quentes de verão) e 55 dias (período com temperaturas mais frias) (Prasanna *et al.*, 2018; Du Plessis; Schlemmer; Van Den Berg, 2020). A mariposa, apresenta 35 mm de envergadura e aproximadamente 15 mm de comprimento, o corpo é de coloração cinza, apresentando as asas posteriores claras e circundadas por linhas marrons em ambos os sexos, e as asas anteriores dos machos possuem manchas mais claras, o que os diferencia das fêmeas (Cruz, 1995, Kemis *et al.*, 2022).

As lagartas recém-eclodidas são de coloração esbranquiçadas e com cabeça mais larga do que o corpo (Cruz *et al.*, 1997). No primeiro instar, o comprimento do corpo e a largura da cápsula cefálica medem, respectivamente, 1,9 mm e 0,3 mm, as de último instar, possuem uma sutura em formato de Y invertido e de cor clara na cabeça e o corpo cilíndrico, com a porção dorsal de coloração marrom-acinzentada e a ventral e subventral esverdeada com manchas marrom-avermelhadas (comprimento do corpo com 50 mm e a largura da cápsula cefálica 2,75 mm) (Sisodiya *et al.*, 2018; Trisyono *et al.*, 2019). A dispersão das larvas é uma característica

adaptativa crucial para a sobrevivência da espécie em resposta ao elevado potencial reprodutivo (De Groote *et al.*, 2020; Ye *et al.*, 2022). Quando recém-eclodidas, as larvas frequentemente se encontram aglomeradas, sua capacidade de se dispersar rapidamente em busca de alimento auxilia na redução de canibalismo, garantindo uma maior taxa de sobrevivência e evitar a predação pelos inimigos naturais (Veldtman; McGeogh; Scholtz, 2007; Pepi; Broadley; Elkinton, 2016; Sotelo-Cardona, 2021).

As larvas de *S. frugiperda* podem também produzir um fio e usá-lo para dispersão em um processo chamado balonismo, podendo alcançar plantas próximas ou distantes (Pannuti *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2021). O balonismo pode expandir a área de infestação em torno das plantas com massas de ovos, o que pode criar uma distribuição espacial agregada das larvas (Pannuti *et al.*, 2016), aumentando a capacidade de invasão da *S. frugiperda* em campo (Pannuti *et al.*, 2016; Sokame *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2021). Características biológicas como a polifagia, a elevada capacidade reprodutiva, a facilidade de dispersão dos adultos, bem como o elevado número de gerações por ano garantem o sucesso em alcançar altas taxas de infestação em culturas nas quais é capaz de se desenvolver causando danos e consequentemente perdas econômicas. (Horikoshi *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2022b). Além disso, devido a ação do vento, uma única geração de mariposas pode dispersar-se a mais de 500 km de distância do local de emergência, até atingirem a maturidade sexual (Wu *et al.*, 2021).

A importância de *S. frugiperda* se deve não só à intensidade das injúrias provocadas nas plantas e aos danos provocados à produtividade, mas também à dificuldade para seu manejo da praga devido a evolução da resistência de populações aos produtos e tecnologias utilizadas no seu manejo apresentando resistência a diversos ingredientes ativos disponíveis no mercado agrícola, desde inseticidas químicos e biológicos (Santos *et al.*, 2004; Mota-Sanchez; Wise, 2025). Nos últimos anos, esta espécie de inseto tem se tornado uma das principais pragas do milho e algodão principalmente no Brasil e em outros países do continente americano, mas também nos países do continente africano, asiático e outros em quase todo o mundo (Flagel *et al.*, 2018).

3.2 *Bacillus thuringiensis* e as proteínas Bt

A tecnologia Bt baseia-se no uso comercial de plantas geneticamente modificadas que recebem genes específicos da bactéria esporulante de solo *Bacillus thuringiensis* (Bt), esses genes conferem à planta a capacidade de produzir proteínas tóxicas a determinados grupos de insetos (Choe; Maeng; Pak, 2022). As principais proteínas inseticidas produzidas pelas

bactérias B. thuringiensis são as proteínas Cry (Proteínas Cristalinas), produzidas na fase de esporulação e as proteínas Vip (Proteínas Inseticidas Vegetativas) produzidas na fase vegetativa (Chakroun *et al.*, 2016). Inicialmente, *B. thuringiensis* destacou-se como um bioinseticida eficaz no controle de pragas agrícolas pertencentes às ordens *Lepidoptera*, *Diptera* e *Coleoptera* (Choe; Maeng; Pak, 2022). Seu uso se expandiu devido aos baixos custos de produção e à ausência de efeitos nocivos ao meio ambiente, à saúde humana e animal, bem como a organismos não-alvo, tornando as proteínas Bt globalmente utilizadas comercialmente (Fu *et al.*, 2018; Mendoza-Almanza *et al.*, 2020; Gounina-Allouane; Acheuk; Sahir-Halouane, 2022).

Na natureza, as proteínas Bt estão na forma inativa (protoxinas), quando ingeridas pelos insetos, as protoxinas são ativadas por proteases específicas que atuam em ambientes de pH alcalino (~9,5), característicos do trato digestivo de alguns insetos pragas (Bravo; Gill; Soberón, 2007). As proteínas Cry são produzidas durante a fase de esporulação das bactérias *B. thuringiensis*, quando são formadas inclusões cristalinas. Segundo Bravo, Gill e Soberón (2007), após ativação enzimática, a toxina se liga a receptores da membrana intestinal do inseto, como aminopeptidase (APN), fosfatase alcalina (ALP) e caderina, essa interação promove a formação de um pré-poro tetrâmero, que se insere na membrana com auxílio de receptores GPI como APN e ALP. A formação do poro resulta em desequilíbrio osmótico, lise das células intestinais, e conseqüentemente, a morte do inseto (Gómez *et al.*, 2002; Bravo; Gill; Soberón, 2007; Pacheco *et al.*, 2009).

A proteína Cry pertence ao grupo das proteínas com estrutura em α -hélice, apresentando uma conformação tridimensional composta por três domínios distintos (De Maagd *et al.*, 1996; Palma *et al.*, 2014). Cada um desses domínios desempenha um papel fundamental no mecanismo de ação da toxina, sendo responsáveis pela sua especificidade na interação com os receptores da membrana intestinal de insetos-praga, bem como nos processos de ligação, oligomerização, inserção e formação de poros (Palma *et al.*, 2014).

As proteínas Vip possui quatro famílias: Vip1, Vip2, Vip3 e Vip4, sendo as proteínas da família Vip3 as mais estudadas devido ao seu amplo espectro de ação contra lepidópteros-praga e à sua importância comercial na agricultura (Mendoza-Almanza *et al.* 2020; Crickmore *et al.*, 2025). Essas proteínas são produzidas e secretadas durante o estágio vegetativo de crescimento bacteriano (Chakroun *et al.*, 2016) e são amplamente estudadas por serem uma excelente alternativa complementar à ação de proteínas inseticidas Cry (Núñez-Ramírez *et al.*, 2020). A estrutura tridimensional da proteína Vip3 é composta por cinco domínios funcionais organizados em uma conformação semelhante a uma pirâmide (Núñez-Ramírez *et al.*, 2020).

Assim como ocorre com as proteínas Cry, a ativação enzimática das proteínas Vip é fundamental para o desempenho de sua função inseticida, sendo os domínios funcionais indispensáveis para esse processo (Jiang *et al.*, 2020; Núñez-Ramírez *et al.*, 2020). A eficácia tóxica das proteínas Vip depende não apenas da ativação e estabilidade estrutural durante a clivagem proteolítica, mas também da especificidade na ligação aos receptores presentes nas células intestinais do inseto-alvo (Núñez-Ramírez *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2022b). Adicionalmente, o mecanismo de ação inseticida das proteínas Vip3 segue o modelo de formação de poros (Kunthic *et al.*, 2017; Syed *et al.*, 2020). Após a ativação por clivagem proteolítica, a proteína Vip3A (subfamília de Vip3) liga-se às membranas do intestino médio dos insetos, promovendo danos severos ao epitélio intestinal, ocasionando sintomas semelhantes aos provocados pelas proteínas Cry, como desequilíbrio osmótico, lise celular e formação de poros na membrana (Chakroun; Ferré, 2014).

3.3 Cultivares Bt e a resistência de insetos

Atualmente, sete espécies de plantas geneticamente modificadas foram aprovadas para comercialização no mercado nacional: algodão, milho, soja, trigo, feijão, cana-de-açúcar e eucalipto (CTNBio, 2025). Dentre esses cultivares transgênicos aprovados, genes derivados de *B. thuringiensis* estão presentes em 68 deles, abrangendo culturas de milho, soja, algodão e cana-de-açúcar (CTNBio, 2025). A primeira geração de plantas Bt foram produzidas com somente uma proteína inseticida e, a primeira proteína Bt aprovada para uso comercial foi a Cry1Ab, inserida no milho transgênico MON810, cuja liberação ocorreu em 2007 (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2013; ISAAA, 2025). Desde então, essas tecnologias têm sido amplamente utilizadas no manejo de pragas agrícolas, contribuindo para a sustentabilidade da produção (Tabashnik; Brevult; Carriere, 2013).

O uso intensivo de uma única proteína acelerou a evolução da resistência dos insetos-praga, resultando nos primeiros casos de resistência a proteína Cry1Ab (Omoto *et al.*, 2016). De forma semelhante, a proteína Cry1F que apresentou perda de eficácia poucos anos após a introdução no mercado agrícola, resultando em diversos relatos de resistência (Farias Júnior *et al.*, 2014). Atualmente, a nova geração de culturas Bt expressa simultaneamente as proteínas Cry1, Cry2 e Vip, para um controle mais eficiente de insetos-praga e como estratégia para combater a resistência (Syed *et al.*, 2020). A principal vantagem da piramidação de genes é o retardo na evolução da resistência dos insetos, uma vez que esse processo tende a ocorrer mais

lentamente em cultivares que expressam múltiplas proteínas inseticidas, em comparação àquelas que expressam apenas uma proteína (Ferré; Van Rie, 2002; Huang *et al.*, 2014).

Para que essa estratégia seja eficaz, é fundamental que as proteínas expressas apresentem modos de ação distintos contra o inseto-alvo (Rajput *et al.*, 2022). Nesse contexto, embora Cry e Vip compartilhem um mecanismo de ação baseado na formação de poros, elas se ligam a receptores diferentes no intestino dos insetos, o que permite uma ação complementar e mais eficiente no controle (Chakraborty; Ferré, 2014), e mesmo que o inseto desenvolva resistência a uma proteína, ainda pode ser controlado pela ação de outra presente na piramidação (Huang *et al.*, 2011). De modo geral, esses cultivares expressam: proteínas da família Cry1, como Cry1Ac no algodão, Cry1A.105 no milho, Cry1F e Cry1Ab presentes tanto no algodão quanto no milho; proteínas da família Cry2, com Cry2Ae utilizada exclusivamente no algodão e Cry2Ab2 presente em ambas as culturas; e proteínas da família Vip3Aa, sendo a Vip3Aa19/Vip3Aa20 inserida no algodão e a Vip3Aa20 no milho (Carrière; Crickmore; Tabashnik, 2015; Yang *et al.*, 2022b).

A resistência de insetos-praga a proteínas inseticidas Bt pode ocorrer por meio de resistência cruzada ou múltipla, a resistência cruzada acontece quando um único mecanismo confere resistência a duas ou mais proteínas Bt, enquanto a resistência múltipla envolve a presença de dois ou mais mecanismos distintos, capazes de suprimir proteínas com modos de ação distintos (Bernardi *et al.*, 2016). Diversos fatores influenciam esse processo, incluindo características biológicas e fisiológicas dos insetos, frequência e herança de alelos de resistência, estratégias de manejo adotadas, comportamento das pragas e a ausência ou redução de custos adaptativos (Tabashnik *et al.*, 2009). Além disso, sistemas agrícolas intensivos, espécies com alta densidade populacional e gerações sobrepostas favorecem o desenvolvimento da resistência (Bernardi *et al.*, 2015; Nagoshi *et al.*, 2015; Burtet *et al.*, 2017).

No Brasil, estudos têm reportado casos de resistência de *S. frugiperda* a cultivos de milho e algodão que expressam combinações piramidadas de proteínas inseticidas, como Cry1A.105, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Ab2 e Cry1F (Farias Júnior *et al.*, 2014; Monnerat *et al.*, 2015; Omoto *et al.*, 2015; Santos-Amaya *et al.*, 2015; Horikoshi *et al.*, 2016; Bernardi *et al.*, 2017; Boaventura *et al.*, 2020). Casos semelhantes de resistência às proteínas Cry1Ac, Cry2Ab e Cry1F também foram documentados em outros países, como Porto Rico, Estados Unidos, China e Argentina (Blanco *et al.*, 2010; Niu *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2017a; Chandrasena *et al.*, 2018; Abdelgaffar; Perera; Jurat-Fuentes *et al.*, 2020; Gutierrez-Moreno *et al.*, 2020; Jin *et al.*, 2021). Por outro lado, um estudo recente conduzido por Silva *et al.* (2024), utilizando lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* oriundas de regiões produtoras do Matopiba e

cultivares de milho Bt, demonstrou suscetibilidade da geração F1 às proteínas Vip3 e Cry, indicando eficácia dessas toxinas contra populações locais da praga.

3.4 Manejo de resistência à tecnologia Bt

Nos últimos anos, a resistência de insetos-praga às plantas Bt tem sido registrada em diversas espécies, especialmente em relação às toxinas inseticidas utilizadas no manejo de lepidópteros-praga (Acharya *et al.*, 2017), principalmente para populações de *S. frugiperda* (Storer *et al.*, 2010; Farias Júnior *et al.*, 2014; Bernardi *et al.*, 2015). Em vários casos, essa resistência tem exigido o uso complementar de inseticidas químicos, com três ou mais aplicações para alcançar níveis eficazes de controle (Fatoretto *et al.*, 2017). O principal desafio para garantir a durabilidade e a sustentabilidade das culturas Bt corresponde a evolução da resistência em populações de insetos (Bernardi *et al.*, 2016).

A exposição contínua às culturas Bt exerce uma intensa pressão seletiva, favorecendo a sobrevivência de indivíduos com características genéticas e fenotípicas que conferem resistência, com o passar do tempo e ao longo de várias gerações, esses indivíduos podem se multiplicar, resultando em populações, predominantemente resistentes (Bernardi *et al.*, 2016). Para retardar esse processo, diversas estratégias têm sido aplicadas por meio do Manejo da Resistência de Insetos (MRI) (Storer *et al.*, 2012). O principal objetivo do MRI é atuar de forma preventiva, evitando ou retardando a evolução da resistência antes que ela se converta em um problema de impacto econômico (Machado; Fiuzza, 2011; Bernadi *et al.*, 2016).

Algumas estratégias são amplamente adotadas no contexto do MRI, sendo elas: o uso de cultivares Bt que expressam altas doses de proteínas inseticidas, a implementação de áreas de refúgio, a piramidação de proteínas com diferentes modos de ação e o monitoramento do desenvolvimento de resistência à tecnologia Bt (Tabashnik; Brevult; Carriere, 2013; Tavares *et al.*, 2021; Prasanna *et al.*, 2022). Dentre essas estratégias, cultivares Bt consideradas de "alta dose" são aquelas que expressam a proteína inseticida em concentração igual ou superior a 25 vezes a dose letal necessária para eliminar a praga-alvo, promovendo mortalidade de cerca de 99% dos indivíduos suscetíveis (SS) e 95% dos heterozigotos (RS), o que contribui significativamente para o atraso na evolução da resistência (Gould, 1998).

A estratégia de a expressão de alta dose de proteínas Bt deve estar associada à implementação de áreas de refúgio, com o objetivo de que insetos resistentes provenientes das áreas de culturas Bt se cruzem com indivíduos suscetíveis oriundos das áreas de refúgio (plantas não-Bt), gerando descendentes heterozigotos que serão eliminados pela elevada concentração

da toxina (Bravo; Gill; Soberón, 2007; Lu *et al.*, 2012). Portanto, a durabilidade da eficácia das plantas Bt contra pragas-alvo depende não apenas dessa estratégia, mas também da estrutura genética da população de insetos, considerando fatores como dominância, modo de herança, complexidade genética e frequência inicial dos alelos de resistência (Álvarez-Alfageme *et al.*, 2022).

Nas culturas Bt atuais, as plantas podem apresentar características piramidais, produzindo múltiplas proteínas inseticidas que atuam em diferentes sítios no epitélio do intestino médio dos insetos (Tabashnik; Brevault; Carriere, 2013; Rajput *et al.*, 2022). Essa abordagem visa evitar a resistência cruzada positiva, situação em que insetos resistentes a uma proteína também desenvolvem resistência a outras proteínas expressas na mesma planta (Carrière; Crickmore; Tabashnik, 2015). Embora as proteínas Cry e Vip compartilhem um modo de ação semelhante, elas não competem pelos mesmos locais de ligação no intestino dos insetos (Gouffon *et al.*, 2011; Chakroun; Ferré, 2014). Estudos indicam que a combinação de duas ou mais proteínas Bt é mais eficaz contra as pragas-alvo do que o uso isolado de uma única proteína, ampliando o espectro de controle inseticida (Figueiredo *et al.*, 2019; Shwe *et al.*, 2021).

O Manejo de Resistência de Insetos é fundamental para garantir a eficácia a longo prazo das culturas Bt, e a adoção das citadas estratégias pode contribuir para retardar a evolução da resistência (Huang *et al.*, 2011; Storer *et al.*, 2012). Na prática, a tecnologia Bt apresenta melhores resultados quando combinada com outras estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP) e Manejo de Resistência de Insetos (MRI), incluindo o monitoramento constante da evolução da resistência (Carrière; Fabrick; Tabashnik, 2016; Tabashnik; Carrière, 2017).

REFERÊNCIAS

- ABDELGAFFAR, H.; PERERA, O. P.; JURAT-FUENTES, J. L. Mutations in an ABC transporter in Cry1F-resistant fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) do not result in altered susceptibility to selected small molecule pesticides. **Pest Management Science**, v. 77, p. 949-955, 2020.
- ACHARYA, B.; HEAD, G. P.; PRICE, P. A.; HUANG, F. Fitness costs and inheritance of Cry2Ab2 resistance in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 149, p. 8-14, 2017.
- ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; DEVOS, Y.; CAMARGO, A. M.; ARPAIA, S.; MESSÉAN, A. Managing resistance evolution to transgenic Bt maize in corn borers in Spain. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 42, n. 2, p. 201-219, 2022.
- BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R. J.; SALMERON, E.; OKUMA, D. M.; FARIAS, J. R. Selection and characterization of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to MON 89034 × TC1507 × NK603 maize technology. **Crop Protection**, v. 94, p. 64-68, 2017.
- BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; CHEFE, G. P.; OMOTO, C. Cross-resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. **PLOS One**, v. 10, e0140130, 2015.
- BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OMOTO, C. **Manejo da resistência de insetos a plantas Bt**. Engenheiro Coelho: PROMIP – Manejo Integrado de Pragas, 2016. 46 p.
- BLANCO, C. A.; PORTILLA, M.; JURAT-FUENTES, J. L.; SÁNCHEZ, J. F.; VITERI, D. M.; VEGA-AQUINO, P.; TERÁN-VARGAS, A. P.; AZUARA-DOMÍNGUEZ, A.; LÓPEZ, J. D.; ARIAS, R.; ZHU, Y. C.; LUGO-BARRERA, D.; JACKSON, R. E. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) isofamiles to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry1Fa toxins. **Southwestern Entomologist**, v. 35, p. 409-415, 2010.
- BOAVENTURA, D.; BUER, B.; HAMAEEKERS, N.; MAIWALD, F.; NAUEN, R. Toxicological and molecular profiling of insecticide resistance in a Brazilian strain of fall armyworm resistant to Bt Cry1 proteins. **Pest Management Science**, v. 77, n. 8, p. 3713-3726, 2021.
- BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.
- BURTET, L. M.; BERNARDI, O.; MELO, A. A.; PES, M. P.; STRAHL, T. T.; GUEDES, J. V. C. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), with Bt maize and insecticides in southern Brazil. **Pest Management Science**, v. 73, p. 2569-2577, 2017.

CARRIÈRE, Y.; CRICKMORE, N.; TABASHNIK, B. E. Optimizing pyramided transgenic Bt crops for sustainable pest management. **Nature Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 161-168, 2015.

CARRIÈRE, Y.; FABRICK, J. Á.; TABASHNIK, B. E. Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt crops? **Trends in Biotechnology**, v. 34, p. 291-302, 2016.

CEDO, R.; GONZÁLEZ-MORENO, P.; MURPHY, S. T.; DAY, R. Forecasting the global extent of invasion of the cereal pest *Spodoptera frugiperda*, the fall armyworm. **NeoBiota**, v. 40, p. 25-50, 2018.

CHAKROUN, M.; FERRÉ, J. In vivo and in vitro binding of Vip3Aa to *Spodoptera frugiperda* midgut and characterization of binding sites by 125I radiolabeling. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 6258-6265, 2014.

CHAKROUN, M.; BANYULS, N.; BEL, Y.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 2, p. 329-350, 2016.

CHANDRASENA, D. I.; SIGNORINI, A. M.; ABRATTI, G.; STORER, N. P.; OLACIREGUI, M. L.; ALVES, A. P.; PILCHER, C. D. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. **Pest Management Science**, v. 74, p. 746-754, 2018.

CHOE, S. G.; MAENG, H. R.; PAK, S. J. Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticide using penicillin fermentation waste matter and application in agriculture. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 2, p. 1-6, 2022.

CRICKMORE, N.; BERRY, C.; PANNEERSELVAM, S.; MISHRA, R.; CONNOR, T. R.; BONNING, B. C. **Bacterial Pesticidal Protein Resource Center**. Disponível em: <https://www.bpprc.org>. Acesso em: mai. 2025.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 1995. 45 p.

CRUZ, I.; VALICENTE, F. H.; SANTOS, I. P.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A. **Manual de identificação de pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1997. 71 p.

CTNBIO. **Tabela de plantas – uso comercial**. Disponível em: http://ctnbio.mctic.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display/SqhWdohU4BvU/view/1684467#/liberacao-comercial/consultar-processo. Acesso em: abr. 2025.

DE GROOTE, H.; KIMENJU, S. C.; MUNYUA, B.; PALMAS, S.; KASSIE, M.; BRUCE, A. Spread and impact of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) in maize production areas of Kenya. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 292, p. 106804, 2020.

DU PLESSIS, H.; SCHLEMMER, M. L.; VAN DEN BERG, J. The effect of temperature on the development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 11, n. 4, p. 228, 2020.

FARIAS JÚNIOR, R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150-158, 2014.

FATORETTO, J. C.; MICHEL, A. P.; SILVA FILHO, M. C.; SILVA, N. Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits Bt trait durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, p. 1-10, 2017.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v. 47, p. 501-533, 2002.

FIGUEIREDO, C. S.; LEMES, A. R. N.; SEBASTIÃO, I.; DESIDÉRIO, J. Á. Synergism of the *Bacillus thuringiensis* Cry1, Cry2, and Vip3 proteins in *Spodoptera frugiperda* control. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, p. 798-809, 2019.

FLAGEL, L.; LEE, Y. W.; WANJUGI, H.; SWARUP, S.; BROWN, A.; WANG, J.; KRAFT, E.; GREENPLATE, J.; SIMMONS, J.; ADAMS, N.; WANG, Y.; MARTINELL, S.; HAAS, J. Á.; GOWDA, A.; HEAD, G. Mutational disruption of the ABCC2 gene in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, confers resistance to the Cry1Fa and Cry1A.105 insecticidal proteins. **Scientific Reports**, v. 8, p. 7255, 2018.

FU, Y.; YU, Z.; LIU, S.; CHEN, B.; ZHU, L.; LI, Z.; ZHANG, H.; WANG, X.; LI, Y. C-di-GMP regulates multiple phenotypes and insecticidal activity of Gram-positive *Bacillus thuringiensis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 45, 2018.

GOERGEN, G.; KUMAR, P. L.; SANKUNG, S. B.; TOGOLA, A.; TAMÒ, M. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLOS One**, v. 11, p. e0165632, 2016.

GÓMEZ, I.; SÁNCHEZ, J.; MIRANDA, R.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. Cadherin-like receptor binding facilitates proteolytic cleavage of helix α -1 in domain I and oligomer pre-pore formation of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. **FEBS Letters**, v. 513, p. 242-246, 2002.

GOUFFON, C.; VAN VLIET, U. M.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; JURAT-FUENTES, J. L. Binding sites for *Bacillus thuringiensis* Cry2Ae toxin in *Heliothis virescens* brush border membrane vesicles are not shared with Cry1A, Cry1F or Vip3A toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, p. 3182-3188, 2011.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 701-726, 1998.

GOUNINA-ALLOUANE, R.; ACHEUK, F.; SAHIR-HALOUANE, F. Efficient and cost-effective production of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* spores and delta-endotoxins

using agricultural raw materials and agro-industrial wastes under submerged fermentation. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, e101001, 2022.

GUTIERREZ-MORENO, R.; MOTA-SANCHEZ, D.; BLANCO, C. A.; CHANDRASENA, D.; DIFONZO, C.; CONNER, J.; HEAD, G.; BERMAN, K.; WISE, J. Susceptibility of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J. E.) from Mexico and Puerto Rico to Bt proteins. **Insects**, v. 11, p. 831, 2020.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; VAN RIE, J.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. **PLOS One**, v. 8, e6816, 2013.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34864, 2016.

HUANG, F.; GHIMIRE, M. N.; LEONARD, B. R.; WANG, J.; DAVES, C.; LEVY, R.; COOK, D.; HEAD, G. P.; YANG, Y.; TEMPLE, J.; FERGUSON, R. F2 screening for resistance to pyramided *Bacillus thuringiensis* maize in Louisiana and Mississippi populations of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Pest Management Science**, v. 67, p. 1269-1276, 2011.

HUANG, F.; QURESHI, J. Á.; MEAGHER, R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; NI, X. Z.; KERNS, D.; BUNTIN, G. D.; NIU, Y. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single gene versus pyramided Bt maize. **PLOS One**, v. 9, e112958, 2014.

ISAAA. **GM Crop Approvals. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications** (ISAAA), 2025. Disponível em: <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=85>. Acesso em: maio 2025.

JIANG, K.; ZHANG, Y.; CHEN, Z.; WU, D.; CAI, J.; GAO, X. Structural and functional insights into the C-terminal fragment of insecticidal Vip3A toxin of *Bacillus thuringiensis*. **Toxins**, v. 12, p. 438, 2020.

JIN, M.; TAO, J.; LI, Q.; CHENG, Y.; SUN, X.; WU, K.; XIAO, Y. A edição genômica do gene *SfABCC2* confere resistência à toxina Cry1F de *Bacillus thuringiensis* em *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, p. 815-820, 2021.

KENIS, M.; BENELLI, G.; BIONDI, A.; CALATAYUD, P. A.; DIA, R.; DESNEUX, N.; GREATREX, R.; HOFMEYER, J.; LUKE, B.; MIGUEL, S.; PANNACCI, E.; PEREIRA, A.; RAMASUBRAMANIAN, T.; SHARMA, S.; TOEPFER, S.; ZHANG, L.; ZHU, Y. Invasiveness, biology, ecology and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Generalis**, v. 43, n. 2, p. 187-241, 2022.

KUNTHIC, T.; WATANABE, H.; KAWANO, R.; TANAKA, Y.; PROMDONKOY, B.; YAO, M.; BOONSERM, P. pH regulates pore formation of a protease activated Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1859, p. 2234-2241, 2017.

LEE, G. S.; SEO, B. Y.; LEE, J.; KIM, H. J.; SONG, J. H.; LEE, W. H. First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae), a new migratory pest in Korea. **Korean Journal of Applied Entomology**, v. 59, p. 73-78, 2020.

LIU, L.; LI, Z.; LUO, X.; ZHANG, X.; CHOU, S.-H.; WANG, J.; HE, J. Which is stronger? A continuing battle between Cry toxins and insects. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

LU, Y. H.; WU, K. M.; JIANG, Y. Y.; GUO, Y. Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, v. 487, p. 362-365, 2012.

MACHADO, V.; FIUZA, L. M. Manejo da resistência: na era das plantas transgênicas. **Oecologia Australis**, v. 15, p. 291-302, 2011.

MENDOZA-ALMANZA, G.; ESPARZA-IBARRA, E. L.; AYALA-LUJÁN, J. L.; MERCADO-REYES, M.; GODINA-GONZÁLEZ, S.; HERNÁNDEZ-BARRALES, M.; OLMOS-SOTO, J. The cytotoxic spectrum of *Bacillus thuringiensis* toxins: from insects to human cancer cells. **Toxins (Basel)**, v. 12, n. 5, p. 301, 2020.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; MACEDO, C.; QUEIROZ, P.; PRACA, L.; SOARES, C. M.; MOREIRA, H.; GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. **PLOS One**, v. 10, 2015.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; MALAQUIAS, J. V.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. Á.; HUNT, T. E. Biotic potential and reproductive parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **The Journal of Agricultural Science**, v. 11, p. 240-252, 2019.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. Á.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, p. 286-301, 2018.

MOSCARDINI, V. F.; MARQUES, L. H.; SANTOS, A. C.; ROSSETTO, J.; SILVA, O. A. B. N.; RAMPAZZO, P. E.; CASTRO, B. A. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize expressing Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2 and Vip3Aa20 proteins to manage the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 137, p. 105269, 2020.

MOTA-SANCHEZ, D.; WISE, J. **Arthropod Pesticide Resistance Database**. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/>. Acesso em: 2025.

MURARO, D. S.; GARLET, C. G.; GODOY, D. N.; COSSA, G. E.; RODRIGUES JUNIOR, G. L. D. S.; STACKE, R. F.; MEDEIROS, S. L.; GUEDES, J. V.; BERNARDI, O. Laboratory and field survival of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt and

non-Bt maize and its susceptibility to insecticides. **Pest Management Science**, v. 75, n. 8, p. 2202-2210, 2019.

NAGOSHI, R. N.; ROSAS-GARCÍA, N. M.; MEAGHER, R. L.; FLEISCHER, S. J.; WESTBROOK, J. K.; SAPPINGTON, T. W.; HAY-ROE, M.; THOMAS, J. M. G.; MURÚA, G. M. Haplotype profile comparisons between *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Mexico with those from Puerto Rico, South America, and the United States and their implications to migratory behavior. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 135-144, 2015.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. The *Spodoptera frugiperda* host strains: What they are and why they matter for understanding and controlling this global agricultural pest. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1729-1743, 2022.

NAVASERO, M. V.; NAVASERO, M. M.; BURGONIO, G. A. S.; ARDEZ, K. P.; EBUENGA, M. D.; BELTRAN, M. J. B.; BATO, M. B.; GONZALES, P. G.; MAGSINO, G. L.; CAOILI, B. L. Detection of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) using larval morphological characters, and observations on its current local distribution in the Philippines. **Philippine Entomologist**, v. 33, p. 171-184, 2019.

NIU, Y.; QURESHI, J. A.; NI, X.; HEAD, G. P.; PRICE, P. A.; MEAGHER, R. L. JR.; KERNS, D.; LEVY, R.; YANG, X.; HUANG, F. Triagem F2 para resistência ao milho Cry2Ab2 de *Bacillus thuringiensis* em populações de campo de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) dos Estados Unidos. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 138, p. 66-72, 2016.

NÚÑEZ-RAMÍREZ, R.; HUESA, J.; BEL, Y.; FERRÉ, J.; CASINO, P.; ARIAS-PALOMO, E. Molecular architecture and activation of the insecticidal protein Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis*. **Nature Communications**, v. 11, p. 1-9, 2020.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 9, p. 1727-1736, 2016.

PACHECO, S.; GÓMEZ, I.; GILL, S. S.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. Enhancement of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins by fragments of a toxin-binding cadherin correlates with oligomer formation. **Peptides**, v. 30, p. 583-588, 2009.

PALMA, L.; MUÑOZ, D.; BERRY, C.; MURILLO, J.; CABALLERO, P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins**, v. 6, p. 3296-3325, 2014.

PANNUTI, L. E. R.; PAULA-MORAES, S. V.; HUNT, T. E.; BALDIN, E. L. L.; DANA, L.; MALAQUIAS, J. V. Plant-to-plant movement of *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize (*Zea mays*). **Journal of Economic Entomology**, v. 109, p. 1125-1131, 2016.

PEPI, A. A.; BROADLEY, H. J.; ELKINTON, J. S. Density-dependent effects of larval dispersal mediated by host plant quality on populations of an invasive insect. **Oecologia**, v. 182, p. 499-509, 2016.

PRASANNA, B.; HUESING, J.; EDDY, R.; PESCHKE, V. **Fall Armyworm in Africa: A Guide for Integrated Pest Management**. Oakside Editorial Services. First Edition. Mexico, 2018. 129 p.

PRASANNA, B. M.; BRUCE, A.; BEYENE, Y.; MAKUMBI, D.; GOWDA, M.; ASIM, M.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; PARIMI, S. Host plant resistance for fall armyworm management in maize: relevance, status and prospects in Africa and Asia. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 135, n. 11, p. 3897-3916, 2022.

RAJPUT, R.; NAIK, J.; MISRA, P.; TRIVEDI, P. K.; PANDEY, A. Gene pyramiding in transgenic plant development: approaches and challenges. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 14, p. 1-19, 2022.

ROMEIS, J.; NARANJO, S. E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A. M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v. 130, p. 136-154, 2019.

SANTOS, L. M.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G.; EFROM, C. F. S. Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 34, p. 345-350, 2004.

SANTOS-AMAYA, O. F.; RODRIGUES, J. V. C.; SOUZA, T. C.; TAVARES, C. S.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, J. P. E. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific Reports**, v. 5, p. 18243, 2015.

SHARANABASAPPA, D.; KALLESHWARASWAMY, C. M.; MARUTHI, M. S.; PAVITHRA, H. B. Biology of invasive fall army worm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on maize. **Indian Journal of Entomology**, v. 80, p. 540-543, 2018.

SHWE, S. M.; WANG, Y. Q.; GAO, Z. P.; LI, X.; LIU, S.; BAI, S. X.; ZHANG, T. T.; HE, K. L.; WANG, Z. Y. Toxicity of Cry1–Class, Cry2Aa, and Vip3Aa19 Bt proteins and their interactions against yellow peach moth, *Conogethes punctiferalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 178, p. 107507, 2021.

SILVA, A. F. T.; SILVA, L. B.; MALAQUIAS, J. B.; SALUSTINO, A. S.; CORREIA NETO, D. F.; PACHECO, D. M.; FRAGOSO, D. B.; PEREIRA, E. J. G. Susceptibility of field populations of fall armyworm to Vip3Aa/Cry Bt maize in a tropical agricultural region. **Agronomy**, v. 14, n. 3, p. 451, 2024.

SISODIYA, D. B.; RAGHUNANDAN, B. L.; BHATT, N. A.; VERMA, H. S.; SHEWALE, C. P.; TIMBADIYA, B. G.; BORAD, P. K. The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae); first report of new invasive pest in maize fields of Gujarat. **India Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, p. 2089-2091, 2018.

- SOKAME, B. M.; SUBRAMANIAN, S.; KILALO, D. C.; JUMA, G.; CALATAYUD, P. A. Larval dispersal of the invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, the exotic stemborer *Chilo partellus*, and indigenous maize stemborers in Africa. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 168, p. 322-331, 2020.
- SOTELO-CARDONA, P.; CHUANG, W. P.; LIN, M. Y.; CHIANG, M. Y.; RAMASAMY, S. Oviposition preference not necessarily predicts offspring performance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on vegetable crops. **Scientific Reports**, v. 11, p. 15885, 2021.
- STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J. W.; HUCKABA, R. M. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1031–1038, 2010.
- STORER, N. P.; THOMPSON, G. D.; HEAD, G. P. Application of pyramided traits against Lepidoptera in insect resistance management for Bt crops. **GM Crops & Food**, v. 3, p. 154-162, 2012.
- SYED, T.; ASKARI, M.; MENG, Z.; LI, Y.; ABID, M. A.; WEI, Y.; SANDUI, G.; LIANG, C.; ZHANG, R. Current insights on vegetative insecticidal proteins (Vip) as next generation pest killers. **Toxins**, v. 12, p. 522, 2020.
- TABASHNIK, B. E.; BREVULT, T.; CARRIERE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, p. 510-521, 2013.
- TABASHNIK, B. E.; CARREIÈRE, Y.; Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology**, v. 35, p. 926-935, 2017.
- TABASHNIK, B. E.; VAN RENSBURG, J. B. J.; CARRIÈRE, Y. Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory, and data. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, p. 2011-2025, 2009.
- TAVARES, C. S.; SANTOS-AMAYA, O. F.; OLIVEIRA, E. E.; PAULA-MORAES, S. V.; PEREIRA, E. J. G. Facing Bt toxins growing up: developmental changes of susceptibility to Bt corn hybrids in fall armyworm populations and the implications for resistance management. **Crop Protection**, v. 146, p. 105664, 2021.
- TRISYONO, Y. A.; SUPUTA, S.; ARYUWANDARI, V. E. F.; HARTAMAN, M.; JUMARI, J. Occurrence of heavy infestation by the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, a new alien invasive pest, in corn in Lampung Indonesia. **Journal Perlindungan Tanaman Indonesia**, v. 23, p. 156-160, 2019.
- VELDTMAN, R.; MCGEOGH, M. A.; SCHOLTZ, C. H. Fine-scale abundance and distribution of wild silk moth pupae. **Bulletin of Entomological Research**, v. 97, p. 15-27, 2007.
- WU, P.; REN, Q.; WANG, W.; MA, Z.; ZHANG, R. A bet-hedging strategy rather than just a classic fast life-history strategy exhibited by invasive fall armyworm. **Entomologia Generalis**, v. 41, p. 337-344, 2021.

YANG, F.; KERNS, D. L.; HEAD, G.; BROWN, S.; HUANG, F. Susceptibility of Cry1F-resistant, heterozygous, and susceptible *Spodoptera frugiperda* to Bt proteins used in transgenic cotton. **Crop Protection**, v. 98, p. 128-135, 2017.

YANG, J.; QUAN, Y. D.; SIVAPRASATH, P.; SHABBIR, M. Z.; WANG, Z. Y.; FERRÉ, J. Insecticidal activity and synergistic combinations of ten different Bt toxins against *Mythimna separata* (Walker). **Toxins**, v. 10, p. 454, 2018.

YANG, X.; WANG, Z.; GENG, L.; CHI, B.; LIU, R.; LI, H.; GAO, J.; ZHANG, J. Vip3Aa domain IV and V mutants confer higher insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa armigera*. **Pest Management Science**, v. 78, p. 2324-2331, 2022a.

YANG, F.; WANG, Z.; KERNS, D. L. Resistance of *Spodoptera frugiperda* to Cry1, Cry2, and Vip3Aa proteins in Bt maize and cotton in the Americas: Implications for the rest of the world. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1752-1760, 2022b.

YE, H.; LI, Y. P.; FENG, D.; LI, C. L. Construction of prevention and control barriers for *Spodoptera frugiperda* in the border areas of Yunnan Province. **Journal of Yunnan University**, v. 44, p. 1054-1061, 2022.

4 CAPÍTULO 2

EFICIÊNCIA DE PIRAMIDAÇÕES BT NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM ALGODÃO

RESUMO

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797), a lagarta-do-cartucho, é uma das principais pragas de culturas como milho, algodão e soja. O manejo da praga tem se baseado amplamente em cultivares transgênicas que expressam proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), entretanto, a evolução da resistência constitui uma ameaça séria à sustentabilidade dessa tecnologia. Este estudo avaliou a eficácia de diferentes combinações de proteínas Bt (eventos piramidados) expressas em cultivares de algodão em larvas de terceiro ínstar de *S. frugiperda*, provenientes de populações de campo coletadas na Fazenda Estrela na serra do Quilombo no município de Bom Jesus- Pi (Latitude: -9,216754; Longitude: -44,916791) e mantidas no Laboratório de Proteção de Plantas- UFPI/CPCE afim de estabelecer uma população de laboratório. Para os cultivares de algodão foram avaliados cinco tratamentos, incluindo o tratamento controle: (1) Não-Bt (controle); (2) Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A; (3) Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A; (4) Cry1F + Cry1Ac + Vip3A e (5) Cry1Ac + Cry2Ab2. A análise estatística foi realizada por meio de GLM e teste de Duncan ($p < 0,05$), com curvas de sobrevivência estimadas pelo método de log-rank e valores de ST_{50} , no software R. As piramidações contendo Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A, Cry1Ac + Cry2Ab2 e Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A resultaram em taxas de mortalidade de 58% e 56%, enquanto a combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A apresentou eficácia reduzida (~23%). A análise de TL_{50} evidenciou que a Vip3A desempenha papel estratégico no controle da praga, especialmente quando combinada com proteínas Cry com modos de ação distintos. Os resultados evidenciam a relevância de proteínas com diferentes modos de ação no manejo de *S. frugiperda* e destacam a importância estratégica da Vip3A, que se mostrou essencial no controle da praga. Esses achados reforçam a necessidade de priorizar piramidações eficientes em programas de Manejo da Resistência a Insetos (MRI), bem como de reavaliar o uso de eventos contendo Cry1F em regiões com histórico de resistência.

Palavras-chave: Análise de sobrevivência, Cry, Evolução da resistência, *Gossypium hirsutum* L., Manejo integrado de pragas, Planta transgênica, Vip3A.

4.1 Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), comumente conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma praga migratória e altamente polífaga, nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas (Montezano *et al.*, 2018; Kenis *et al.*, 2022). Sua importância econômica decorre da capacidade de se alimentar de mais de 350 espécies de plantas, causando danos significativos a culturas elevada relevância, como milho (*Zea mays* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) (FAO, 2020).

No Brasil, a sucessão intensiva de culturas como milho, algodão e soja ao longo do ano tem mantido uma pressão constante da praga no campo, dificultando seu controle (Machado *et al.*, 2020). Esse desafio é agravado pela alta capacidade reprodutiva e de dispersão do inseto, bem como pela rápida evolução da resistência tanto aos inseticidas químicos quanto às proteínas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Omoto *et al.*, 2016; Nagoshi *et al.*, 2020; Lira *et al.*, 2020).

Como alternativa ao controle químico, cultivares transgênicos que expressam proteínas Bt das famílias Cry e Vip3A têm sido amplamente adotados para o manejo de *S. frugiperda*. Essas tecnologias visam reduzir a dependência de inseticidas químicos e minimizar os efeitos sobre organismos não alvo (Romeis *et al.*, 2019). No entanto, o uso prolongado de eventos com genes únicos, particularmente aqueles que expressam Cry1F e Cry1Ab, tem contribuído para o surgimento e a disseminação de populações resistentes de *S. frugiperda* na América (Bernardi *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2021; Tay *et al.*, 2022).

Nesse contexto, a piramidação de proteínas Bt, definida como a inserção de múltiplos genes que codificam proteínas inseticidas com modos de ação distintos em uma única planta, surgiu como uma estratégia promissora para ampliar o espectro de controle e retardar a evolução da resistência (Carrière *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2018). No entanto, o sucesso dessa abordagem depende da compatibilidade funcional das proteínas combinadas e da ausência de resistência cruzada, especialmente entre as toxinas Cry e Vip.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de *S. frugiperda* a diferentes combinações de proteínas Bt expressas em cultivares transgênicos de algodão, com foco na identificação das características piramidadas mais eficazes no controle da praga. A hipótese central é que combinações envolvendo proteínas com modos de ação distintos, como Vip3A, Cry1 e Cry2, proporcionem maior mortalidade larval e menor risco de

resistência cruzada, na busca de uma ferramenta mais eficaz para o manejo de *S. frugiperda* em regiões com resistência já estabelecida.

Nesse sentido, os resultados deste estudo buscam fornecer evidências científicas fundamentais para apoiar a seleção de cultivares Bt mais eficazes no campo, subsidiar programas regionais de monitoramento da resistência e orientar políticas públicas voltadas ao controle sustentável de pragas. A integração desse conhecimento ao planejamento do manejo agrícola busca contribuir no uso eficiente das tecnologias Bt, especialmente em áreas sob alta pressão de seleção.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Populações de insetos

Larvas de *S. frugiperda* foram coletadas manualmente em campos de milho Bt, durante a safra 2023/2024 na Fazenda Estrela na serra do Quilombo no município de Bom Jesus- Pi (Latitude: -9,216754; Longitude: -44,916791), visando o estabelecimento de população laboratorial. A coleta foi realizada diretamente nos cartuchos das plantas e as larvas foram transferidas para recipientes de plásticos (100 mL) contendo folhagem fresca de milho ou dieta artificial conforme descrito por Karsten Júnior (Karsten; Precetti; Parra, 1978). Após a coleta, os recipientes contendo as larvas foram acondicionadas em caixas térmicas de isopor para transporte seguro e levados ao Laboratório de Proteção de Plantas, do Campus Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí, localizado em Bom Jesus, Piauí.

No laboratório, as larvas foram individualizadas em bandejas de criação com 16 células cada e alimentadas com dieta artificial padronizada até alcançarem o estágio de pupa. A triagem das pupas (macho/ fêmea) foi realizada, e os indivíduos adultos foram transferidos para gaiolas de criação, contendo dez pares de macho e fêmea por gaiola, para obtenção das gerações utilizadas nos bioensaios. As larvas das gerações subsequentes foram mantidas em dieta artificial até atingirem o terceiro ínstar (comprimento médio de 4 a 8 mm), e serem utilizadas no bioensaio de tempo-mortalidade. As larvas de terceiro ínstar foram escolhidas devido à sua suscetibilidade intermediária às proteínas Bt, permitindo uma maior condição de detecção de suscetibilidade reduzida em relação aos ínstar iniciais e tardios.

4.2.2 Cultivares de algodão Bt

Foram utilizados cinco cultivares de algodão, sendo quatro com tecnologia Bt e um cultivar não Bt, como controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Cultivares de algodão utilizados no estudo, suas respectivas proteínas inseticidas expressas e a tecnologia Bt associada.

Cultivar	Proteínas Bt	Tecnologia Bt
Cultivar 1	Cry1Ac, Cry2Ab2	Bollgard II RR Flex™
Cultivar 2	Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3A	GlyTol LibertyLink TwinLink Plus
Cultivar 3	Cry1Ac, Cry2Ab2, Vip3A	Bollgard® 3 RR Flex
Cultivar 4	Cry1F, Cry1Ac, Vip3A	WideStrike® 3
Cultivar 5	-	GlyTol LibertyLink

As plantas foram cultivadas em vasos de 10 litros (quatro sementes/ vaso) e mantidas em estufa. Durante o estágio reprodutivo das plantas, entre o florescimento e a formação do capulho, folhas frescas foram coletadas diariamente, cortadas em seções de 3-4 cm² e armazenadas em recipientes contendo água destilada para manutenção da turgidez. As folhas foram refrigeradas e mantidas no laboratório para utilização imediata nos experimentos.

4.2.3 Bioensaio foliar e tempo-mortalidade

O bioensaio de tempo-mortalidade foi realizado em condições controladas no Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil. As condições abióticas do laboratório foram mantidas estáveis, com temperatura de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas de luz. Foram utilizadas larvas de terceiro ínstar, provenientes das populações laboratoriais a partir da quinta geração de insetos previamente descritas.

Os bioensaios foram conduzidos utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos com seis repetições. Cada repetição possui 16 larvas de *S. frugiperda*, mantidas individualmente em bandejas com 16 compartimentos, resultando em um total de 480 indivíduos utilizados no experimento ($5 \text{ cultivares} \times 6 \text{ repetições} \times 16 \text{ larvas}$). As larvas foram alimentadas com seções de folhas frescas (3-4 cm²) de suas respectivas cultivares. As avaliações de mortalidade foram realizadas a cada 6 horas, durante um período de 7 dias.

4.2.4 Análises estatísticas

A taxa de mortalidade cumulativa descrita acima foi analisada por meio de um modelo linear generalizado (GLM) com distribuição binomial a partir do pacote ‘multcomp’ (Hothorn; Bretz; Westfall, 2008). As curvas de sobrevivência foram calculadas utilizando o método de log-rank ($\alpha = 0,05$) para identificar diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Para estimar os valores de tempo mediano de sobrevivência (ST50) e seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%), foram utilizados os pacotes estatísticos survminer e survival no software R (R Core Team, 2024). Diferenças nos valores de ST50 entre os tratamentos foram consideradas significativas quando os IC 95% não se sobrepuseram. As médias de mortalidade foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), a fim de identificar diferenças significativas entre os eventos Bt avaliados. Todas as análises foram realizadas no software R.

4.3 Resultados

De acordo com as curvas de sobrevivência (Figura 1 e Tabela 2), o efeito das diferentes combinações de proteínas Bt piramidadas sobre as lagartas de *S. frugiperda* variou significativamente entre os tratamentos (log-rank, $p < 0,0001$). A combinação Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A resultou em uma rápida redução da sobrevivência larval, atingindo 50% de sobrevivência até o terceiro dia. Cry1Ac + Cry2Ab2 apresentou tendência semelhante, alcançando esse mesmo resultado até o quinto dia. Em contraste, 50% de sobrevivência, no tratamento com Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A foi atingindo em seis dias para atingir 50% de sobrevivência. A combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A apresentou um declínio gradual na sobrevivência, indicando eficácia reduzida. As lagartas alimentadas com folhas de algodão não-Bt mantiveram elevadas taxas de sobrevivência ao longo dos sete dias de avaliação, superando 75%, o que reflete a ausência de efeitos tóxicos no tratamento controle.

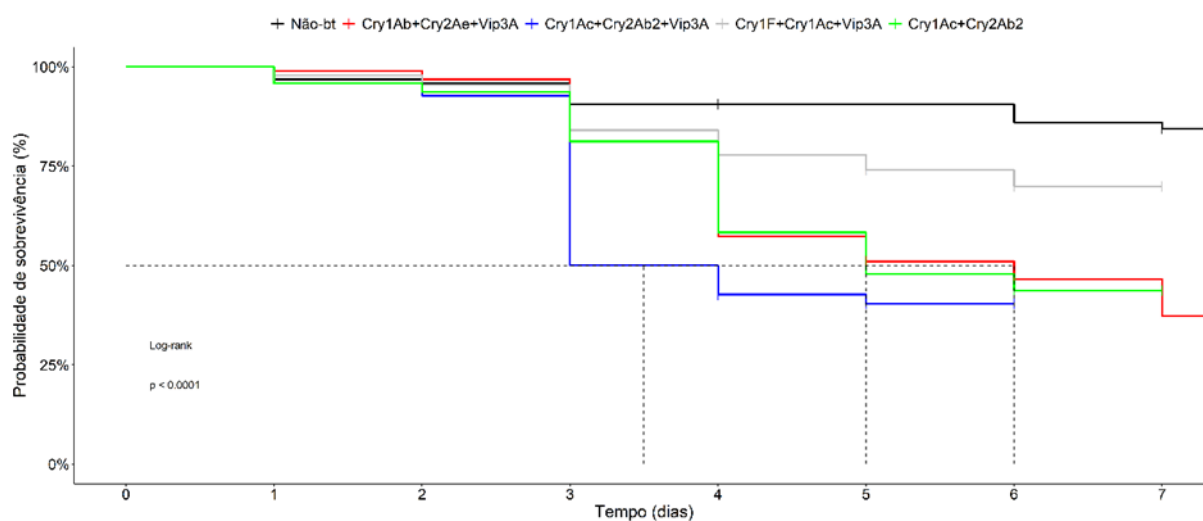


Figura 1 - Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de algodão expressando proteínas Vip3Aa/Cry. Tratamentos avaliados: Não-Bt (controle), Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A, Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A, Cry1F + Cry1Ac + Vip3A e Cry1Ac + Cry2Ab2. As diferenças na sobrevivência foram estatisticamente significativas (log-rank, $p < 0,0001$).

Tabela 2 - Tempo letal mediano (TL₅₀), em dias, para 50% de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* exposta a diferentes combinações de proteínas Bt. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). NA: não aplicável.

Proteína Bt	TL 50 Média (dias)	95%CL Média (dias)
Controle	NA	NA
Cry1Ab, Cry2Ae, Vip3A	6,0	5,0-NA
Cry1Ac, Cry2Ab2, Vip3A	3,5	3,0-NA
Cry1F, Cry1Ac, Vip3A	NA	NA
Cry1Ac, Cry2Ab2	5,0	4,0-NA

Durante o primeiro e o segundo dia de avaliação, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). No terceiro dia, a combinação Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A se destacou, alcançando aproximadamente 50% de mortalidade acumulada. Do quinto ao sétimo dia, as piramidações Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A, Cry1Ac + Cry2Ab2 e Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A apresentaram taxas de mortalidade significativamente mais altas em comparação ao controle e à combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A (Figura 2). Entre as piramidações testadas, Cry1F + Cry1Ac + Vip3A apresentou a menor mortalidade larval (~25%), reforçando sua menor eficácia no controle da praga.

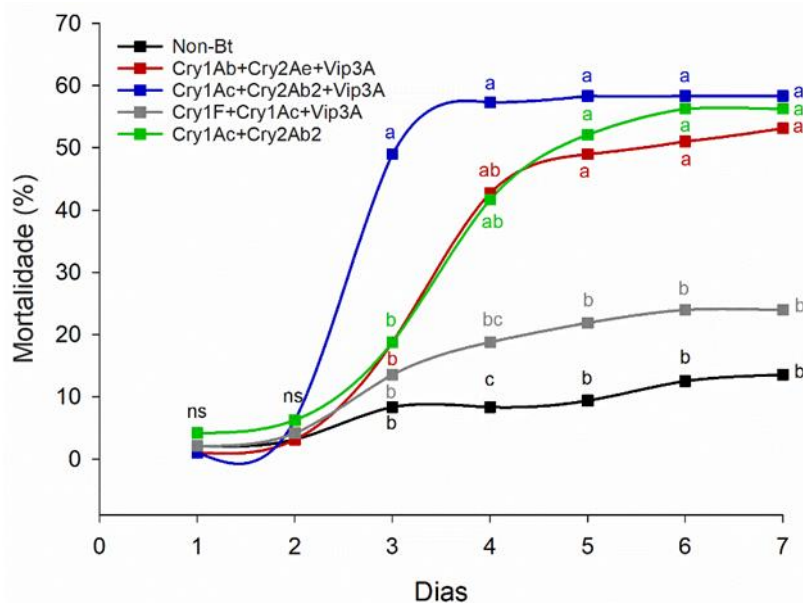


Figura 2 - Mortalidade acumulada (%) de *Spodoptera frugiperda* ao longo de sete dias de alimentação com folhas de algodão Bt. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em cada dia de avaliação ($p < 0,05$).

A mortalidade média também evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 3). As combinações Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A (~58%), Cry1Ac + Cry2Ab2 (~56%) e Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A (~53%) apresentaram maior eficácia, todas ultrapassando 50% de mortalidade. Por outro lado, a combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A exibiu mortalidade reduzida (~23%). O teste de Duncan confirmou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

Os resultados demonstraram que a combinação de proteínas Bt com modos de ação distintos (Cry1, Cry2 e Vip3A) desempenharam um papel fundamental no manejo da resistência de *S. frugiperda*, e que a eficácia das proteínas Bt depende da combinação específica de proteínas. A baixa mortalidade associada à piramidação contendo Cry1F destacou a necessidade de reavaliar seu uso em regiões com histórico documentado de resistência.

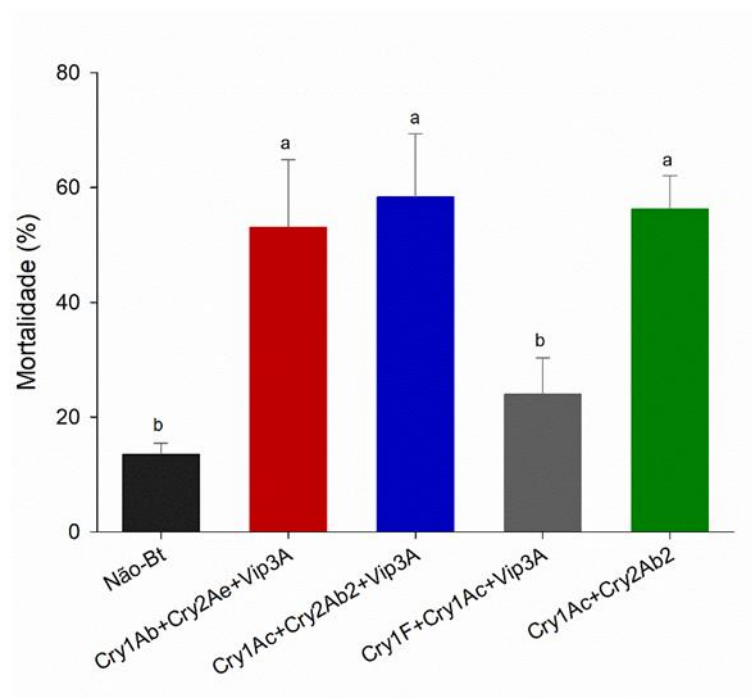


Figura 3 - Mortalidade (%) de *Spodoptera frugiperda* alimentada com híbridos de algodão Bt expressando as proteínas Vip3A/Cry. Barras com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

4.4 Discussão

Neste estudo, foi avaliada a suscetibilidade de uma população de *S. frugiperda* a diferentes combinações de proteínas Bt expressas em cultivares de algodão. Os resultados demonstraram que os bioensaios com as piramidações Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A (~58%/mortalidade), Cry1Ac + Cry2Ab2 (~56%/mortalidade) e Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A (~53%/ mortalidade) foram eficazes na mortalidade. Dentre elas, Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A apresentou mortalidade significativamente mais alta durante todo o período experimental, indicando seu potencial como uma ferramenta robusta no manejo da praga avaliada.

A presença da Vip3A combinada com Cry1Ac e Cry2Ab2 indicou uma contribuição para uma interação sinérgica que aumentou a toxicidade geral. O sinergismo entre proteínas Bt ocorre quando a combinação produz um efeito tóxico maior do que a soma dos efeitos individuais (Figueiredo *et al.*, 2019). Estudos de Figueiredo *et al.* (2019) e Liu (2024) corroboram que a combinação de Cry1Ac, Cry2Ab e Vip3Aa gera efeitos sinérgicos significativos, resultando em maior mortalidade larval e redução no desenvolvimento da resistência. Outros estudos demonstraram que a Vip3A mantém alta toxicidade mesmo contra populações resistentes às proteínas Cry1 e Cry2. Zhu *et al.* (2019) demonstraram a eficácia da Vip3A contra linhagens de *S. frugiperda* com resistência cruzada a Cry1Ab e Cry2Ab, enquanto

Wen *et al.* (2023) destacaram sua ação complementar em características piramidadas. Esses resultados apoiam a inclusão estratégica da Vip3A em cultivos Bt.

A combinação Cry1Ac + Cry2Ab2 apresentou eficácia comparável à piramidação tripla, indicando intensa ação sinérgica entre Cry1Ac e Cry2Ab2. Yang *et al.* (2017) também relataram alta mortalidade em linhagens suscetíveis de *S. frugiperda* expostas a essa combinação. Entretanto, como enfatizado por Machado *et al.* (2020), combinações subótimas podem comprometer a eficácia do controle, como observado na combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A, que apresentou desempenho inferior (~23% de mortalidade). O ineficaz desempenho do Cry1F está associado à resistência registrada em várias regiões, como Brasil, Porto Rico, Estados Unidos e Argentina (Storer *et al.*, 2010; Omoto *et al.*, 2016; Boaventura *et al.*, 2021). Populações resistentes podem apresentar resistência cruzada a Cry1Ac devido a semelhanças estruturais e modos de ação compartilhados (Horikoshi *et al.*, 2016). O receptor ABCC2, por exemplo, interage com Cry1Fa, Cry1Ab e Cry1Ac, e mutações nesse receptor têm sido associadas a múltiplos mecanismos de resistência a proteína Cry (Banerjee *et al.*, 2017; Camargo *et al.*, 2017; Yang *et al.*, 2019).

A piramidação de proteínas Bt com modos de ação distintos — como Cry1, Cry2 e Vip3A tem se mostrado eficaz para ampliar o espectro de controle de pragas e reduzir a velocidade da evolução da resistência (Tay *et al.*, 2022). As proteínas Cry se ligam a receptores específicos no intestino médio, formando poros que causam desequilíbrio osmótico e lise celular (Tanaka *et al.*, 2016; Jurat-Fuentes *et al.*, 2021). Em contraste, a Vip3A atua por um outro mecanismo, formando oligômeros que se inserem nas membranas celulares independentemente dos receptores Cry, levando à morte larval (Chakroun; Ferré, 2014; Kunthic *et al.*, 2017). Essa distinção no mecanismo de ação contribui para a baixa ou inexistente resistência cruzada entre Vip3A e proteínas Cry (Chakroun *et al.*, 2016; Wen *et al.*, 2023). Assim, a incorporação da Vip3A em cultivos Bt é crucial para manter alta eficácia, mesmo em áreas com histórico de resistência a Cry (Liu *et al.*, 2024).

A resistência evoluída no campo tem sido frequentemente atribuída à implementação inadequada de áreas de refúgio, ausência de eventos de alta dose e aplicação limitada de estratégias de manejo integrado de pragas (MIP) e manejo integrado de resistência (MIR) (Carrière; Fabrick; Tabashnik, 2016; Tabashnik; Carrière, 2017). A rotação de culturas, o plantio de refúgio e o monitoramento local das populações de pragas são práticas críticas para mitigar a resistência as culturas Bt. O uso estratégico de proteínas piramidadas com modos de ação complementares é fundamental para prolongar a durabilidade das tecnologias Bt em regiões sob alta pressão seletiva.

Adicionalmente, é essencial considerar que a eficácia das características piramidadas pode variar conforme a variabilidade genética das populações de *S. frugiperda* de diferentes regiões, reforçando a importância de programas contínuos de monitoramento da resistência.

4.5 Conclusão

Os resultados deste estudo destacam a importância estratégica da piramidação de proteínas Bt com modos de ação distintos para o controle de *S. frugiperda*. As combinações Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A, Cry1Ac + Cry2Ab2 e Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A demonstraram eficácia superior, alcançando mais de 50% de mortalidade. Em contraste, a combinação Cry1F + Cry1Ac + Vip3A apresentou baixa efetividade (<50%), provavelmente devido à resistência pré-existente ao Cry1F. Esses resultados ressaltaram a necessidade de uma seleção criteriosa das características Bt piramidadas, considerando a compatibilidade entre proteínas e o histórico regional de resistência, a fim de garantir o sucesso a longo prazo das tecnologias Bt nos programas de manejo de pragas.

REFERÊNCIAS

- BANERJEE, R.; HASLER, J.; MEAGHER, R.; NAGOSHI, R.; HIETALA, L.; HUANG, F.; SHEN, K.; HUANG, S.; JURAT-FUENTES, J. L. Mechanism and DNA-based detection of field-evolved resistance to transgenic Bt corn in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-10, 2017.
- BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Cross-resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. **PLoS One**, v. 10, e0140130, 2015.
- BOAVENTURA, D.; BUER, B.; HAMEAKERS, N.; MAIWALD, F.; NAUEN, R. Toxicological and molecular profiling of insecticide resistance in a Brazilian strain of fall armyworm resistant to Bt Cry1 proteins. **Pest Management Science**, v. 77, n. 8, p. 3713-3726, 2021.
- CAMARGO, A. M.; CASTAÑERA, P.; FARINÓS, G. P.; HUANG, F. Comparative analysis of the genetic basis of Cry1F resistance in two strains of *Spodoptera frugiperda* originated from Puerto Rico and Florida. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 146, p. 47-52, 2017.
- CARRIÈRE, Y.; FABRICK, J. A.; TABASHNIK, B. E. Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt crops? **Trends in Biotechnology**, v. 34, p. 291-302, 2016.

CHAKROUN, M.; BANYULS, N.; BEL, Y.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 2, p. 329-350, 2016.

CHAKROUN, M.; FERRÉ, J. In vivo and in vitro binding of Vip3Aa to *Spodoptera frugiperda* midgut and characterization of binding sites by ¹²⁵I radiolabeling. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 6258-6265, 2014.

FIGUEIREDO, C. S.; LEMES, A. R. N.; SEBASTIÃO, I.; DESIDÉRIO, J. Á. Synergism of the *Bacillus thuringiensis* Cry1, Cry2, and Vip3 proteins in *Spodoptera frugiperda* control. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, p. 798-809, 2019.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **open knowledge repository**, 2020. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/9b3b2198-00ef-4484-91e6-fc8c87a505c5/content>. Acesso em: 10 fev. 2025.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMADO, D.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C. L.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34864, 2016.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrics Journal**, v. 50, n. 3, p. 346–363, 2008. doi: 10.1002/bimj.200810425.

HUANG, F. Field-evolved resistance in *Spodoptera frugiperda* and its implications for Bt cotton sustainability. **Insect Science**, v. 28, n. 5, p. 574-589, 2021.

JURAT-FUENTES, J. L.; HECKEL, D. G.; FERRÉ, J. Mechanisms of resistance to insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v. 66, p. 121-140, 2021.

KARSTEN, J. A. A.; PRECETTI, C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista da Agricultura**, v. 53, p. 68–78, 1978.

KENIS, M.; BENELLI, G.; BIONDI, A.; CALATAYUD, P. A.; DIA, R.; DESNEUX, N.; GREATREX, R.; HOFMEYER, J.; LUKE, B.; MIGUEL, S.; PANNACCI, E.; PEREIRA, A.; RAMASUBRAMANIAN, T.; SHARMA, S.; TOEPFER, S.; ZHANG, L.; ZHU, Y. Invasiveness, biology, ecology and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Generalis**, v. 43, n. 2, p. 187-241, 2022.

KUNTHIC, T.; WATANABE, H.; KAWANO, R.; TANAKA, Y.; PROMDONKOY, B.; YAO, M.; ANGSAWAD, T.; CHANDRANAYUTHIN, K.; PANYIM, S.; UYTENDAELE, I.; BOONSIRISONG, P. pH regulates pore formation of a protease activated Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1859, p. 2234-2241, 2017.

LIRA, E. C.; MACHADO, A. R.; NASCIMENTO, A. R. B.; LIMA, L. H. C.; SOARES, C. M.; SANTOS, A. C.; GUEDES, J. V. C.; OLIVEIRA, E. E. Resistance of *Spodoptera*

frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) to spinetoram: inheritance and cross-resistance to spinosad. **Pest Management Science**, v. 76, p. 2674-2680, 2020.

LIU, X.; LIU, S.; BAI, S.; HE, K.; ZHANG, Y.; DONG, H.; CHEN, W.; ZHENG, Y.; WANG, Y. Toxicity of Cry- and Vip3Aa-Class proteins and their interactions against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Toxins**, v. 16, n. 4, p. 193, 2024.

MACHADO, E. P.; GUEDES, J. V. C.; FÜHR, F. M.; ZAGO, S. L.; MARQUES, L. H.; SANTOS, A. C.; SILVA, M. M.; MARTINS, E. S.; OMOTO, C. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, p. 10080, 2020.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PAREDES, H.; VITORINO, A. C. T.; VIDAL, C. A.; NASCIMENTO, J. P. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, p. 286-301, 2018.

NAGOSHI, R. N.; CAÑARTE, E.; NAVARRETE, B.; PICO, J.; BRAVO, C.; ARIAS DE LÓPEZ, M.; MURÚA, M.; HENRIQUES, M.; BEAVER, L.; SPARKS, M. E.; VIVAS, M. A. The genetic characterization of fall armyworm populations in Ecuador and its implications to migration and pest management in the northern regions of South America. **PLoS One**, v. 15, e0236759, 2020.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, p. 1727-1736, 2016.

R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 27 out. 2025.

ROMEIS, J.; NARANJO, S. E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A. M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v. 130, p. 136-154, 2019.

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J. W.; HUCKABA, R. M.; LEWIS, L. C. J. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1031-1038, 2010.

TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 926-935, 2017.

TANAKA, S.; ENDO, H.; ADEGAWA, S.; KIKUTA, S.; SATO, R. Functional characterization of *Bacillus thuringiensis* Cry toxin receptors explains resistance in insects. **FEBS Journal**, v. 283, n. 24, p. 4474-4490, 2016.

TAY, W. T.; RANE, R. V.; JAMES, W.; GORDON, K. H. J.; DOWNES, S.; KIM, J.; WANG, Z.; WANG, J.; BARR, N.; SUN, Y. Resistance bioassays and allele characterization

inform analysis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) introduction pathways in Asia and Australia. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, p. 1790-1805, 2022.

WEN, Z.; ZHANG, X.; GUO, Y.; WANG, Y. Ten years after commercialization, Vip3A remains effective in controlling major lepidopteran pests. **Pest Management Science**, v. 79, n. 2, p. 123-134, 2023.

YANG, F.; KERNS, D. L.; HEAD, G. P.; PRICE, P.; HUANG, F. Cross-resistance to purified Bt proteins, Bt corn and Bt cotton in a Cry2Ab2-corn resistant strain of *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 73, n. 12, p. 2495-2503, 2017.

YANG, J.; QUAN, Y. D.; SIVAPRASATH, P.; SHABBIR, M. Z.; WANG, Z. Y.; FERRÉ, J.; HE, K. Insecticidal activity and synergistic combinations of ten different Bt toxins against *Mythimna separata* (Walker). **Toxins**, v. 10, p. 454, 2018.

YANG, X.; CHEN, W.; SONG, X.; MA, X.; COTTO-RIVERA, R. O.; KAIN, W.; HU, Y. Mutation of ABC transporter ABCA2 confers resistance to Bt toxin Cry2Ab in *Trichoplusia ni*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 112, p. 103209, 2019.

ZHU, C.; CAO, J.; COLLINS, H. L.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Efficacy of Bt pyramid maize hybrids expressing Cry1, Cry2, and Vip3A against lepidopteran pests. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 251-256, 2019.

5 CAPÍTULO 3

IMPACTO DE EVENTOS BT PIRAMIDADOS SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE *Spodoptera frugiperda* EM MILHO

RESUMO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) é a principal praga do milho *Zea mays* L. no Brasil, e o uso de cultivares transgênicos expressando proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) constitui uma ferramenta essencial para o seu manejo. Contudo, a evolução da resistência a algumas toxinas, como Cry1F, ameaça a durabilidade dessa tecnologia. Este estudo avaliou a sobrevivência larval de *S. frugiperda* em diferentes cultivares de milho Bt, comparando piramidações com distintas combinações de proteínas, com ênfase naquelas contendo Vip3Aa. Os bioensaios de tempo-mortalidade foram conduzidos com larvas de terceiro ínstar, provenientes de populações de campo coletadas na Fazenda Estrela na serra do Quilombo no município de Bom Jesus- Pi (Latitude: -9,216754; Longitude: -44,916791). Essas lagartas foram mantidas em uma criação no Laboratório de Proteção de Plantas-UFPI/CPCE para obtenção das gerações a serem utilizadas no estudo. Para a realização dos bioensaios as lagartas foram alimentadas com folhas de cultivares que expressaram distintas combinações de proteínas Bt. Assim, para os cultivares de milho foram avaliados sete tratamentos, incluindo o tratamento controle: (1) Não-Bt (controle); (2) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1; (3) Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa; (4) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2; (5) Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa; (6) Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2+ Vip3A e (7) Cry1Ab + Vip3A. A análise estatística foi realizada por meio de GLM e teste de Duncan ($p < 0,05$), com curvas de sobrevivência estimadas pelo método de log-rank e valores de ST_{50} , no software R. Os resultados evidenciaram diferenças significativas entre as piramidações, as combinações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 apresentaram maior eficácia, com TL_{50} de quatro dias e mortalidade acumulada de 68–66%, respectivamente, após sete dias de avaliação. A piramidação Cry1Ab + Vip3Aa (58%) e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 (50%) também se destacaram, alcançando mortalidade elevada. Em contraste, piramidações contendo Cry1F, Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2+ Vip3A, mesmo associadas à Vip3Aa, exibiram baixa eficácia ambas com 41%, refletindo a disseminação da resistência a esta proteína em populações brasileiras. Os resultados confirmam que a Vip3Aa é uma proteína-chave para a durabilidade da tecnologia

Bt, por seu modo de ação distinto, elevada toxicidade e ausência de resistência cruzada. Assim, eventos piramidados contendo Vip3Aa devem ser priorizados em áreas com histórico de resistência às proteínas Cry, garantindo maior eficácia no manejo de *S. frugiperda* e contribuindo para a sustentabilidade do milho Bt no Brasil.

Palavras-chave: Cultivares Bt, Lagarta-do-cartucho, Manejo de inseto, Proteínas Bt, Suscetibilidade.

5.1 Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores de milho no mundo, cultivando aproximadamente 21 milhões de hectares (CONAB, 2025). A cultura do milho está sujeita a uma ampla gama de insetos-pragas desde a germinação até a maturação fisiológica dos grãos, incluindo lagartas desfolhadoras, insetos de solo e pragas de superfície que afetam principalmente as plântulas (Valicente, 2015). A intensidade dos danos depende do estágio fenológico da planta, das condições edafoclimáticas, do sistema de cultivo e de fatores bióticos específicos de cada região (Cruz, 2022). Entre as pragas associadas ao milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é a de maior importância econômica, ocasionando perdas expressivas pelo corte de plântulas e pelo consumo de folhas, cartucho e espigas (Fatoretto *et al.*, 2017; Huang, 2020).

Nos estágios iniciais, as lagartas raspam a superfície foliar sem causar rupturas significativas. À medida que se desenvolvem, elas migram para o cartucho da planta, onde se alimentam intensamente, resultando em perfurações foliares, redução da área fotossintética e danos diretos às espigas (Vassallo, 2019; Anjorin *et al.*, 2021). Essa localização no cartucho dificulta a penetração de inseticidas, comprometendo a eficácia do controle químico (Barcelos; Angelini, 2018).

Atualmente, um dos principais desafios no manejo de *S. frugiperda* é a evolução da resistência às tecnologias de controle, incluindo inseticidas químicos e plantas transgênicas que expressam proteínas inseticidas derivadas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Farias *et al.*, 2014; Omoto *et al.*, 2016 Okuma *et al.*, 2018). No Brasil, cultivares Bt estão disponíveis comercialmente desde 2007 (ISAAA, 2025), expressando de forma isolada ou em piramidações com diferentes toxinas, como as proteínas Cry e Vip, e se consolidando como ferramenta essencial no manejo dessa praga.

Desde a introdução do milho Bt expressando Cry1F, a tecnologia passou a ser amplamente cultivada em larga escala e durante todo o ano (Horikoshi *et al.*, 2016). Contudo, a presença recorrente de Cry1F tanto em milho quanto em algodão exerceu uma intensa pressão seletiva sobre as populações da praga, culminando no primeiro registro de resistência em 2014 (Farias Júnior *et al.*, 2014). O uso intensivo e contínuo de eventos Bt com proteínas semelhantes acelerou a seleção de alelos de resistência, comprometendo gradualmente a eficácia dessa tecnologia (Tabashnik *et al.*, 2009).

A piramidação de proteínas Bt com diferentes sítios de ação é uma das principais estratégias para ampliar o espectro de controle e retardar a evolução da resistência. Nesse cenário, a inclusão da proteína Vip3A tem se mostrado fundamental, devido ao seu modo de ação distinto e à elevada eficácia contra populações resistentes a proteínas Cry1 e Cry2 (Zhu *et al.*, 2019; Wen *et al.*, 2023). Assim, eventos piramidados contendo Vip3A têm se consolidado como ferramentas promissoras para prolongar a durabilidade da tecnologia Bt e manter níveis consistentes de controle no campo.

Partindo da hipótese de que a eficácia das proteínas Bt varia conforme a combinação expressa nos cultivares, este estudo avaliou a suscetibilidade de *S. frugiperda* a diferentes piramidações de proteínas Bt em milho. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi identificar quais combinações conferem maior eficácia no controle da praga, na busca de verificar a relevância dos eventos piramidados com Vip3A e a importância de integrar tais tecnologias ao manejo integrado de pragas, associando seu uso a práticas de monitoramento populacional, a fim de prolongar a eficiência e sustentabilidade do controle de *S. frugiperda* em sistemas agrícolas brasileiros.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Populações de insetos

Larvas de *S. frugiperda* foram coletadas manualmente em campos de milho Bt, durante a safra 2023/2024 na Fazenda Estrela na serra do Quilombo no município de Bom Jesus- Pi (Latitude: -9,216754; Longitude: -44,916791), visando o estabelecimento de população laboratorial. A coleta foi realizada diretamente nos cartuchos das plantas e as larvas foram transferidas para recipientes de plásticos (100 mL) contendo folhagem fresca de milho ou dieta artificial conforme descrito por Karsten Júnior (Karsten; Precetti; Parra, 1978). 1978). Após a coleta, os recipientes contendo as larvas foram acondicionadas em caixas térmicas de isopor

para transporte seguro e levados ao Laboratório de Proteção de Plantas do Campus Professora Cinobelina Elvas da Universidade Federal do Piauí, localizado em Bom Jesus, Piauí.

No laboratório, as larvas foram individualizadas em bandejas de criação com 16 células cada e alimentadas com dieta artificial padronizada até alcançarem o estágio de pupa. A triagem das pupas (macho/ fêmea) foi realizada, e os indivíduos adultos foram transferidos para gaiolas de criação, contendo dez pares de macho e fêmea por gaiola, para obtenção das gerações utilizadas nos bioensaios. As larvas das gerações subsequentes foram mantidas em dieta artificial até atingirem o terceiro ínstar (comprimento médio de 4 a 8 mm), e serem utilizadas no bioensaio de tempo-mortalidade. As larvas de terceiro ínstar foram escolhidas devido à sua suscetibilidade intermediária às proteínas Bt, permitindo uma maior condição de detecção de suscetibilidade reduzida em relação aos instares iniciais e tardios.

5.2.2 Cultivares de milho Bt

Foram utilizados sete cultivares de milho, sendo seis com tecnologia Bt e um cultivar não Bt (controle) (Tabela 3).

Tabela 3 - Cultivares de milho utilizados no estudo, suas respectivas proteínas inseticidas expressas e a tecnologia Bt associada.

Cultivares	Proteína Bt	Tecnologia Bt
Cultivar 1	Cry1A.105, Cry2Ab2, VIP3A e Cry3Bb1	VTPRO4
Cultivar 2	Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2 e Vip3Aa20	PowerCore® ULTRA
Cultivar 3	Cry1Ab, VIP3A	Viptera
Cultivar 4	Cry1F, Cry1Ab e Vip3Aa20	Leptra®
Cultivar 5	Cry1A.105, Cry2Ab2, VIP3A	Trecepta
Cultivar 6	Cry1F, Cry1A.105 e Cry2Ab2	PowerCore®
Cultivar 7	-	Round Ready®

Os cultivares Bt e as proteínas inseticidas que expressam são apresentados na Tabela 3. O cultivo das plantas foi realizado em vasos de 10 L, (quatro sementes/ vaso), mantidos em estufa no Campus Professora Cinobelina Elvas, da Universidade Federal do Piauí. A folhagem fresca foi coletada durante os estádios de crescimento V4 a V10 do milho. A detecção da expressão das proteínas Bt nas amostras de milho foi realizada utilizando tiras imunocromatográficas dos kits QuickStix específicos para as proteínas Cry1, Cry2 e Vip3A (Envirologix Latin America Headquarters, Jaguariúna, SP, Brasil). As folhas foram cortadas

diariamente (seções de 3 a 4 cm²), armazenadas em recipientes com água destilada para manter a turgidez, refrigeradas e mantidas no laboratório para serem utilizados nos bioensaios.

5.2.3 Bioensaio foliar, tempo-mortalidade

Os bioensaios de tempo-mortalidade foram realizados em condições abióticas controladas no Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil (temperatura de 25 ± 3 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas de luz). Foram utilizadas larvas de terceiro ínstar, provenientes da população laboratoriais a partir da quinta geração de insetos previamente descritas.

Os bioensaios foram conduzidos utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos com seis repetições. Cada repetição possui 16 larvas de *S. frugiperda*, mantidas individualmente em bandejas com 16 compartimentos, resultando em um total de 672 indivíduos utilizados no experimento ($7 \text{ cultivares} \times 6 \text{ repetições} \times 16 \text{ larvas}$). As larvas foram alimentadas com seções de folhas frescas dos cultivares de milho Bt (3-4 cm²) de suas respectivas cultivares. As avaliações de mortalidade foram realizadas a cada 6 horas, durante um período de 7 dias.

5.2.4 Análises estatísticas

A taxa de mortalidade cumulativa descrita acima foi analisada por meio de um modelo linear generalizado (GLM) com distribuição binomial a partir do pacote ‘multcomp’ (Hothorn; Bretz; Westfall, 2008). As curvas de sobrevivência foram calculadas utilizando o método de log-rank ($\alpha = 0,05$) para identificar diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Para estimar os valores de tempo mediano de sobrevivência (ST50) e seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%), foram utilizados os pacotes estatísticos survminer e survival no software R (R Core Team, 2024). Diferenças nos valores de ST50 entre os tratamentos foram consideradas significativas quando os IC 95% não se sobrepuseram. As médias de mortalidade foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$), a fim de identificar diferenças significativas entre os eventos Bt avaliados. Todas as análises foram realizadas no software R.

5.3 Resultados

A análise da curva de sobrevivência de *S. frugiperda* em cultivares de milho Bt indicaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,0001$). As piramidações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa apresentaram a menor probabilidade de sobrevivência larval, com redução de 50% no quarto dia de avaliação da mortalidade (Figura 4 e tabela 4).

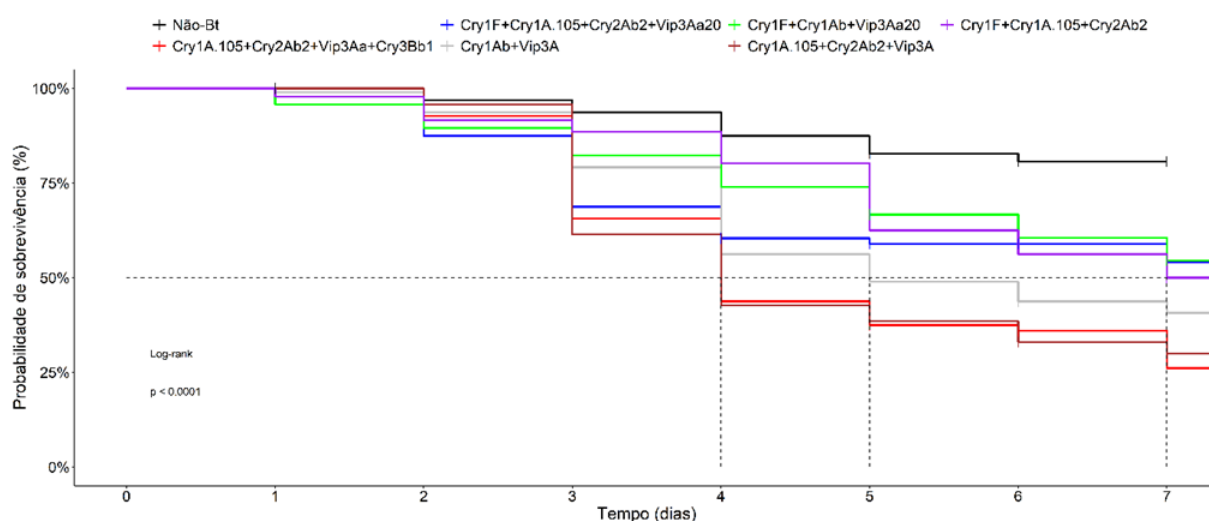


Figura 4 - Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de milho expressando proteínas Vip3Aa/Cry Bt. Tratamentos avaliados: Não-Bt (controle), Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa, Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2, Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3A. As diferenças na sobrevivência foram estatisticamente significativas (log-rank, $p < 0,0001$).

Tabela 4 - Tempo letal mediano (TL₅₀), em dias, para 50% de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* exposta a diferentes combinações de proteínas Bt. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). NA: não aplicável.

Proteína Bt	TL 50 Média (dias)	95%CL Média (dias)
Controle	NA	NA
Cry1A.105+Cry2Ab2+Vip3Aa+Cry3Bb1	4,0	4,0- 5,0
Cry1F+Cry1A.105+Cry2Ab2+Vip3Aa20	NA	5,0- NA
Cry1Ab+Vip3A	5,0	4,0- NA
Cry1F+Cry1Ab+Vip3Aa20	NA	7,0- NA
Cry1A.105+Cry2Ab2+Vip3A	4,0	4,0- 5,0
Cry1F+Cry1A.105+Cry2Ab2	7,0	6,0-NA

A piramidação Cry1Ab + Vip3Aa também demonstrou alta eficácia, com tempo mediano de sobrevivência de cinco dias. Em contraste, os tratamentos contendo Cry1F, Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa20, Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa20 e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 exibiram sobrevivência significativamente superior às demais piramidações Bt na tecnologia Bt.

A mortalidade acumulada de *S. frugiperda* variou significativamente entre os tratamentos ao longo dos sete dias de avaliação (Figura 5). Nos dois primeiros dias, não foram observadas diferenças estatísticas entre as piramidações Bt e o controle não Bt ($p > 0,05$). Entre o terceiro e o quinto dia, os tratamentos Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 apresentaram mortalidade significativamente superior às demais piramidações Bt. No sexto e sétimo dia, o tratamento Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa manteve o melhor desempenho, enquanto Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, Cry1Ab + Vip3Aa e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 apresentaram mortalidade intermediária. Em contrapartida, as piramidações contendo Cry1F, Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa exibiram mortalidade significativamente menor, demonstrando eficácia limitada no controle de *S. frugiperda*.

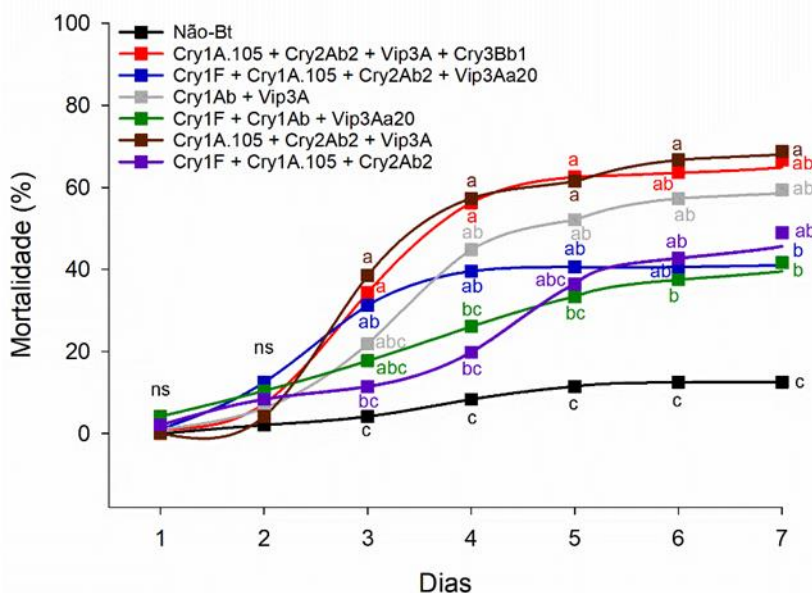


Figura 5 - Mortalidade acumulada (%) de *Spodoptera frugiperda* ao longo de sete dias de alimentação com folhas de milho Bt. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos em cada dia de avaliação ($p < 0,05$).

A mortalidade acumulada de *S. frugiperda* variou significativamente entre os tratamentos ao longo dos sete dias de avaliação (Figura 5). Nos dois primeiros dias, não foram

observadas diferenças estatísticas entre as piramidações Bt e o controle não Bt ($p > 0,05$). Entre o terceiro e o quinto dia, os tratamentos Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 apresentaram mortalidade significativamente superior às demais piramidações Bt. No sexto e sétimo dia, o tratamento Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa manteve o melhor desempenho, enquanto Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, Cry1Ab + Vip3Aa e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 apresentaram mortalidade intermediária. Em contrapartida, as piramidações contendo Cry1F, Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa exibiram mortalidade significativamente menor, demonstrando eficácia limitada no controle de *S. frugiperda*.

Houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) (Figura 6). As piramidações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa (~68 %) e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 (~66%), apresentaram as maiores taxas de mortalidade de *S. Frugiperda*, sendo as mais eficazes no controle da praga e estaticamente superiores aos demais tratamentos.

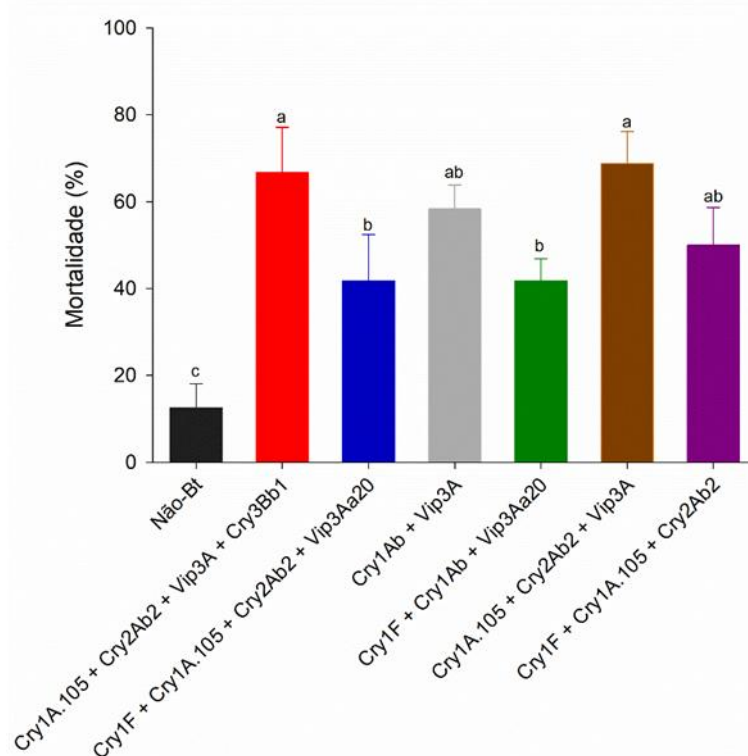


Figura 6 - Mortalidade (%) de *Spodoptera frugiperda* alimentada com híbridos de milho Bt expressando as proteínas Vip3A/Cry. Barras com letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

As piramidações Cry1Ab + Vip3Aa (~60%) e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 (~50%), apresentaram desempenho intermediário, enquanto as piramidações Cry1F + Cry1A.105 +

Cry2Ab2 + Vip3Aa20 (~41 %), Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa (~41, %), exibiram mortalidade reduzida, em relação as demais piramidações Bt avaliadas.

Os resultados evidenciam a maior eficiência das piramidações que contêm a proteína Vip3Aa, resultando em mortalidade mais elevada de *S. frugiperda*, enquanto as combinações que incluem Cry1F demonstraram eficácia reduzida, o que reforça a necessidade de reavaliação do uso de eventos baseados em Cry1F.

5.4 Discussão

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram diferenças expressivas na eficácia das piramidações Bt de milho no controle de *S. frugiperda*, com destaque para o desempenho superior dos eventos que expressam a proteína Vip3Aa em combinação com outras toxinas Cry, especialmente as combinações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa, Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, que foram significativamente mais eficazes, promovendo redução de 50% da sobrevivência larval no quarto dia e mortalidade 66-70% até o sétimo dia. Esses dados estão em consonância com estudos recentes que confirmam mortalidades entre 98–100% em populações de campo ao expor larvas F1 de *S. frugiperda* a cultivares de milho com Vip3Aa combinados com proteínas Cry, como observado no estudo conduzido em regiões tropicais do Brasil (Silva *et al.*, 2024). Tais resultados podem ser atribuídos à alta toxicidade da Vip3Aa, aliada ao potencial complementar das proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2.

A piramidação Cry1Ab + Vip3Aa, embora composta por apenas duas proteínas, também apresentou elevado desempenho, com mortalidade de (~58%) e tempo mediano de sobrevivência de cinco dias, reforçando a importância da Vip3Aa como proteína chave para o sucesso das piramidações, mesmo as mais simples podem ser altamente eficazes, desde que incluam a proteína Vip3Aa. Segundo Liu *et al.* (2024), a toxina Vip3Aa demonstrou ser significativamente mais tóxica do que qualquer proteína Cry isolada, sendo mais rápida, letal e em menor concentração (CL₅₀). Além disso, as combinações de Vip3Aa com Cry2Ab podem ter apresentado efeitos aditivos e sinérgicos, aumentando a mortalidade larval.

A proteína Vip3A apresenta maior eficácia em comparação às proteínas Cry1 e Cry2 devido ao seu modo de ação distinto e à ausência de resistência cruzada. Estudos mostram que Vip3A se liga a receptores diferentes de Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Fa, Cry2Ab e Cry2Ae, mantendo a suscetibilidade mesmo em populações resistentes às proteínas Cry (Ben *et al.*, 2013; Chakroun; Ferré, 2014; Chakroun *et al.*, 2016), o que reduz a probabilidade de resistência cruzada entre essas classes de toxinas. Adicionalmente, no Brasil, estudos de monitoramento

detectaram baixa frequência de alelos de resistência a Vip3Aa20 (0,0033) e confirmaram sua importância em eventos piramidados (Bernardi *et al.*, 2015; Amaral *et al.*, 2019). Esses resultados destacaram a importância da incorporação da Vip3A em piramidações Bt.

Os tratamentos contendo Cry1F apresentaram mortalidades intermediárias (~41–50%) e ação mais lenta, com metade da população viável até o final do estudo como ocorreu na piramidação Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2. Essa eficácia limitada se justifica por meio dos diversos relatos de resistência de campo a Cry1F, inclusive no Brasil (Farias Júnior *et al.*, 2016; Santos-Amaya *et al.*, 2017). Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores, como os de Orozco-Restrepo *et al.* (2024), que documentaram resistência prática de populações brasileiras de *S. frugiperda* às proteínas Cry1F, Cry1A.105 e Cry2Ab2. No mesmo estudo, observou-se que a resistência ao Cry1F foi não recessiva e à piramidação Cry1A.105 e Cry2Ab2 foi recessiva, mas estável ao longo de 12 gerações e sem custos de aptidão, fatores que favorecem sua persistência em campo.

A presença de Cry1F pode reduzir o desempenho de piramidações ao promover seleção prévia de resistência cruzada. As piramidações Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa20 (~41 %) e Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa (~41, %), mesmo contendo Vip3Aa, foram menos eficazes que outras combinações sem Cry1F. Quando uma toxina (como Cry1F) possui resistência disseminada, ela não contribui efetivamente para o controle e ainda favorece a sobrevivência de indivíduos heterozigotos, aumentando o risco de resistência para outras toxinas da piramidação (Tabashnik; Carrière *et al.*, 2017; Tabashnik *et al.*, 2023). Isso reduz o valor funcional da piramidação e compromete sua durabilidade, sendo ainda mais crítico quando a pressão de seleção é alta e as estratégias de manejo é implementada inadequadamente.

Diante disso, a adição de Vip3Aa em eventos piramidados torna-se crucial, pois, além de ampliar o espectro de ação, evita a resistência cruzada com as proteínas Cry1, pois o uso contínuo de piramidações contendo Cry1F em regiões com histórico de resistência pode comprometer o sucesso de piramidações subsequentes. Diversos estudos apontam que a proteína Vip3Aa se liga a receptores diferentes daqueles utilizados pelas proteínas Cry1 e Cry2, o que impede o desenvolvimento de resistência cruzada em populações de *S. frugiperda*. Portanto, mesmo populações resistentes a Cry1 e Cry2 mantêm elevada suscetibilidade à Vip3Aa (Jakka *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Boaventura *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022). Estudos moleculares também demonstram que a resistência à Cry1F está frequentemente associada à mutação no gene ABCC2 (Flagel *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2020), o que compromete sua eficácia, especialmente quando utilizada em piramidações com outras toxinas estruturalmente semelhantes, como Cry1A.105 e Cry1Ab.

Segundo Wen *et al.* (2023), o evento MIR162, que expressa Vip3Aa, mantém um controle eficaz de *S. frugiperda* mesmo após mais de 10 anos de uso comercial, sem registros de falhas práticas em campo. Assim, a ausência de resistência cruzada entre Vip3Aa e as proteínas Cry, associada ao alto custo adaptativo da resistência à Vip3Aa (Yang *et al.*, 2021), o que reforça a necessidade de priorizar eventos Bt que incluam essa toxina em áreas com histórico de resistência.

Embora, os resultados tenham demonstrado que piramidações com Vip3Aa são significativamente superiores, a adoção de eventos Bt contendo Vip3Aa deve ser priorizada como estratégia de manejo de resistência e controle eficiente visando a sustentabilidade e durabilidade da tecnologia Bt. Além disso, ressalta-se a importância de estudos contínuos de monitoramento da suscetibilidade de populações de *S. frugiperda* em diferentes regiões geográficas. Pois a vigilância constante permitirá detectar precocemente alterações nos níveis de eficácia afim de ajustar as estratégias de manejo de *S. frugiperda*.

5.5 Conclusão

Os resultados deste estudo evidenciam que a eficácia das tecnologias Bt no controle de *S. frugiperda* varia de acordo com as combinações de proteínas expressas nos cultivares de milho. As piramidações que incluem a proteína Vip3Aa, especialmente nas combinações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, apresentaram maior desempenho, com rápida redução da sobrevivência larval e taxas de mortalidade superiores. Por outro lado, piramidações contendo Cry1F, mesmo quando associadas à Vip3Aa, demonstraram eficácia reduzida, o que reflete a disseminação de resistência à esta toxina em populações brasileiras de *S. frugiperda*, favorecendo a sobrevivência de indivíduos resistentes e acelerando a seleção de resistência em campo.

Os resultados reforçaram a importância da Vip3Aa como proteína-chave em eventos Bt piramidados, devido ao seu modo de ação distinto, elevada toxicidade e ausência de resistência cruzada. A priorização de cultivares que incluam Vip3Aa em regiões com histórico de falhas de controle associadas a proteínas Cry é fundamental para garantir a durabilidade da tecnologia Bt e assegurar o manejo sustentável de *S. frugiperda* na cultura do milho no Brasil.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, F. S. A.; GUIDOLIN, A. S.; SALMERON, E.; KANNO, R. H.; PADOVEZ, F. E. O.; FATORETTO, J. C.; OMOTO, C. Geographical distribution of Vip3Aa20 resistance allele frequencies in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Pest Management Science**, v. 76, p. 169-178, 2019.
- ANJORIN, F. B.; ODEYEMI, O. O.; AKINBODE, O. A.; KAREEM, K. T. Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (JE Smith)) (Lepidoptera: Noctuidae) infestation: maize yield depression and physiological basis of tolerance. **Journal of Plant Protection Research**, v. 62, p. 12-21, 2021.
- BARCELOS, P. H. S.; ANGELINI, M. R. Controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em diferentes tecnologias Bt na cultura do milho. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 5, p. 35-40, 2018.
- BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Cross-resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. **PLoS One**, v. 10, e0140130, 2015.
- BOAVENTURA, D.; BUER, B.; HAMEAKERS, N.; MAIWALD, F.; NAUEN, R. Toxicological and molecular profiling of insecticide resistance in a Brazilian strain of fall armyworm resistant to Bt Cry1 proteins. **Pest Management Science**, v. 77, n. 8, p. 3713-3726, 2021.
- CHAKROUN, M.; FERRÉ, J. In vivo and in vitro binding of Vip3Aa to *Spodoptera frugiperda* midgut and characterization of binding sites by 125I radiolabeling. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 6258-6265, 2014.
- CHAKROUN, M.; BANYULS, N.; BEL, Y.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 2, p. 329-350, 2016.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 12, safra 2024/25, n. 11, décimo primeiro levantamento, ago. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/safras/safra-de-graos/boletim-da-safra-de-graos/11o-levantamento-safra-2024-25/11o-levantamento-safra-2024-25>. Acesso em: ago. 2025.
- CRUZ, I. **Controle biológico de pragas do milho**: Uma oportunidade para os agricultores. Brasília, DF: Embrapa, 2022. 129 p.
- FARIAS JÚNIOR, R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. D.; NASCIMENTO, A. R.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Frequency of Cry1F resistance alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 12, p. 2295-2302, 2016.

FARIAS JÚNIOR, R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150-158, 2014.

FATORETTO, J. C.; MICHEL, A. P.; SILVA FILHO, M. C.; SILVA, N. Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits Bt trait durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, p. 1-10, 2017.

FLAGEL, L.; LEE, Y. W.; WANJUGI, H.; SWARUP, S.; BROWN, A.; WANG, J.; KRAFT, E.; GREENPLATE, J.; SIMMONS, J.; ADAMS, N.; WANG, Y.; MARTINELLI, S.; HAAS, J. A.; GOWDA, A.; HEAD, G. Mutational disruption of the ABCC2 gene in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, confers resistance to the Cry1Fa and Cry1A.105 insecticidal proteins. **Scientific Reports**, v. 8, p. 7255, 2018.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34864, 2016.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrics Journal**, v. 50, n. 3, p. 346–363, 2008. doi: 10.1002/bimj.200810425.

HUANG, F. Resistance of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, to transgenic *Bacillus thuringiensis* Cry1F corn in the Americas: lessons and implications for Bt corn IRM in China. **Journal of Insect Science**, v. 28, n. 3, p. 574-589, 2020.

ISAAA. **International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications**, GM Approval Database. Disponível em: <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/advsearch/default.asp>. Acesso em: 15 ago. 2025.

JAKKA, S. R. K.; GONG, L.; HASLER, J.; BANERJEE, R.; SHEETS, J. J.; NARVA, K.; BLANCO, C. A.; JURAT-FUENTES, J. L. Field-evolved Mode 1 resistance of the fall armyworm to transgenic Cry1Fa-expressing corn associated with reduced Cry1Fa toxin binding and midgut alkaline phosphatase expression. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 4, p. 1023-1034, 2015.

KARSTEN, J. A. A.; PRECETTI, C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista da Agricultura**, v. 53, p. 68–78, 1978.

LIU, X.; LIU, S.; BAI, S.; HE, K.; ZHANG, Y.; DONG, H.; ZHANG, T.; WANG, Z. Toxicity of Cry and Vip3Aa class proteins and their interactions against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Toxins**, v. 16, p. 193, 2024.

LI, G.; REISIG, D.; MIAO, J.; GOULD, F.; HUANG, F.; FENG, H. Frequency of non-recessive Cry1F resistance alleles in field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in North Carolina. **PLoS One**, v. 11, n. 4, e0154492, 2016.

OROZCO-RESTREPO, S. M.; SANTOS-AMAYA, O. F.; MIRANDA, M. S.; TAVARES, C. S.; PEREIRA, E. J. G. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): practical resistance of 2

Brazilian populations to Cry1A.105 + Cry2Ab and Cry1F Bt maize. **Journal of Economic Entomology**, v. 117, n. 3, p. 1-11, 2024.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 27 out. 2025.

SILVA, A. F. T.; SILVA, L. B.; MALAQUIAS, J. B.; SALUSTINO, A. S.; CORREIA NETO, D. F.; PACHECO, D. M.; FRAGOSO, D. B.; PEREIRA, E. J. G. Susceptibility of field populations of fall armyworm to Vip3Aa/Cry Bt maize in a tropical agricultural region. **Agronomy**, v. 14, n. 3, p. 451, 2024.

SANTOS-AMAYA, O. F.; TAVARES, C. S.; RODRIGUES, J. V. C.; SOUZA, T. C.; RODRIGUES-SILVA, N.; GUEDES, R. N. C.; ALVES, A. P.; PEREIRA, E. J. G. Magnitude and allele frequency of Cry1F resistance in field populations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 4, p. 1770-1778, 2017.

TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y.; WU, Y.; FABRICK, J. A. Global perspectives on field-evolved resistance to transgenic Bt crops: a special collection. **Journal of Economic Entomology**, v. 116, n. 2, p. 269–274, 2023. doi: 10.1093/jee/toad054.

TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology**, v. 35, n. 10, p. 926-935, 2017.

TABASHNIK, B. E.; VAN RENSBURG, J. B. J.; CARRIÈRE, Y. Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory, and data. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, p. 2011-2025, 2009.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 13 p.

VASSALLO, C. N.; BUNGE, F. F.; SIGNORINI, A. M.; VALVERDE-GARCIA, P.; RULE, D.; BABCOCK, J. Monitoring the evolution of resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to the Cry1F protein in Argentina. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p. 1838-1844, 2019.

WEN, Z.; CONVILLE, J.; MATTHEWS, P.; HOOTMAN, T.; HIMES, J.; WONG, S.; HUANG, F.; NI, X.; CHEN, J. S.; BRAMLETT, M. More than 10 years after commercialization, Vip3A-expressing MIR162 remains highly efficacious in controlling major Lepidopteran maize pests: laboratory resistance selection versus field reality. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 192, p. 105385, 2023.

YANG, F.; GONZÁLEZ, J. C. S.; LITTLE, N.; REISIG, D.; PAYNE, G.; SANTOS, R. F.; JURAT-FUENTES, J. L.; KURTZ, R.; KERNS, D. L. First documentation of major Vip3Aa resistance alleles in field populations of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) in Texas, USA. **Scientific Reports**, v. 10, p. 5867, 2020.

YANG, F.; WILLIAMS, J.; HUANG, F.; KERNS, D. L. Genetic basis and cross-resistance of Vip3Aa resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) derived from Texas, USA. **Crop Protection**, v. 147, p. 105702, 2021.

YANG, X.; WANG, Z.; GENG, L.; CHI, B.; LIU, R.; LI, H.; GAO, J.; ZHANG, J. Vip3Aa domain IV and V mutants confer higher insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa armigera*. **Pest Management Science**, v. 78, p. 2324-2331, 2022.

ZHU, C.; CAO, J.; COLLINS, H. L.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Efficacy of Bt pyramid maize hybrids expressing Cry1, Cry2, and Vip3A against lepidopteran pests. **Nature Biotechnology**, v. 37, n. 3, p. 251-256, 2019.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise integrada das curvas de sobrevivência em ambas as culturas, algodão e milho revelou padrões distintos, porém complementares, na eficácia das piramidações Bt. No milho, as piramidações Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1 e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa demonstraram excelente desempenho, com tempo mediano de sobrevivência de quatro dias e mortalidade superior (~65%-70%, respectivamente). Resultado similar foi observado no algodão para Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3Aa20, que apresentou um tempo ainda mais rápido, em apenas três dias (~60%) (Figura 7).

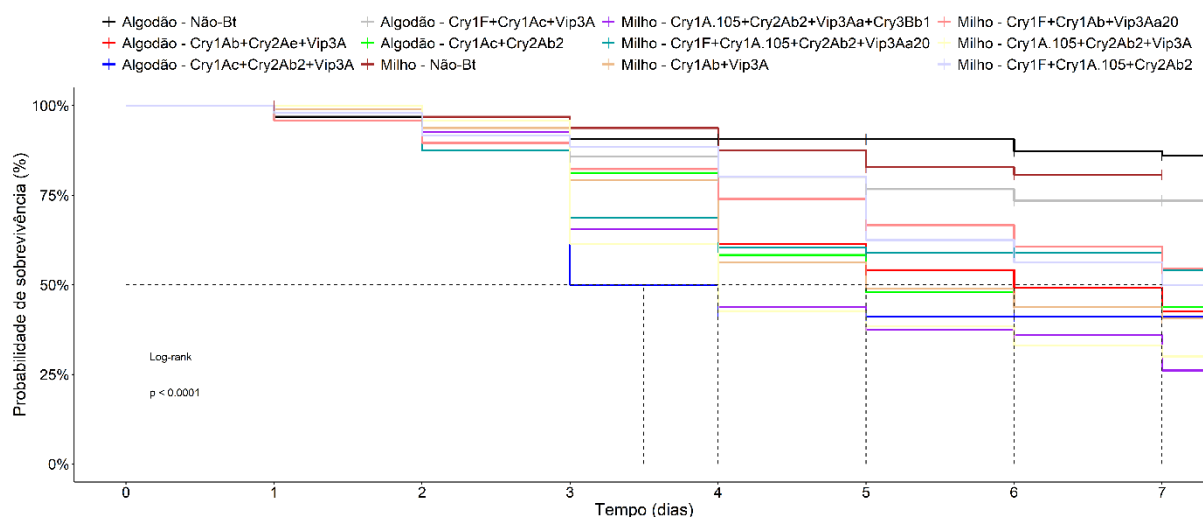


Figura 7 - Curvas de sobrevivência da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) alimentadas com tecidos foliares de cultivares de algodão e milho expressando proteínas Vip3Aa/Cry Bt. Os tratamentos avaliados: Não-Bt (controle), Cry1Ab + Cry2Ae + Vip3A, Cry1Ac + Cry2Ab2 + Vip3A, Cry1F + Cry1Ac + Vip3A e Cry1Ac + Cry2Ab2 para algodão e Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa + Cry3Bb1, Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Vip3Aa, Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2, Cry1F + Cry1Ab + Vip3Aa e Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2+ Vip3A para milho. As diferenças na sobrevivência foram estatisticamente significativas (log-rank, $p < 0,0001$).

Em ambas as culturas, a presença da proteína Vip3Aa mostrou-se fundamental para o controle eficiente das larvas de *S. frugiperda*, acelerando significativamente a redução da sobrevivência. Por outro lado, os tratamentos contendo Cry1F apresentaram desempenho inferior de forma consistente nas duas culturas. No milho, piramidações como Cry1F + Cry1A.105 + Cry2Ab2 mostraram tempo de sobrevivência prolongado, padrão similar ao observado no algodão para Cry1F + Cry1Ac + Vip3A.

Os resultados indicam que piramidações Bt contendo a proteína Vip3Aa são mais eficazes na redução da sobrevivência de *S. frugiperda*, enquanto combinações com Cry1F apresentam desempenho inferior. Esses resultados destacaram a importância de selecionar eventos Bt com alta eficácia e complementaridade entre proteínas, considerando as características únicas de cada cultura, para maximizar o controle do inseto-praga avaliado e prolongar a durabilidade das tecnologias Bet no manejo sustentável.