

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Entomologia



Dissertação

Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de *Spodoptera frugiperda*

Indyra Faria de Carvalho

Pelotas, 2019

Indyra Faria de Carvalho

Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de *Spodoptera frugiperda*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Entomologia).

Orientador: Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa

Coorientador: Dr. Moises João Zotti

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C331i Carvalho, Indyra Faria de

Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de *Spodoptera frugiperda* / Indyra Faria de Carvalho ; Ana Paula Schneid Afonso da Rosa, orientadora ; Moises João Zotti, coorientador. — Pelotas, 2019.

47 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Lagarta do cartucho do milho. 2. Populações. 3. Hospedeiros. 4. Manejo. I. Rosa, Ana Paula Schneid Afonso da, orient. II. Zotti, Moises João, coorient. III. Título.

CDD : 595.7

Indyra Faria de Carvalho

Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de *Spodoptera frugiperda*

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 07/03/2019

Banca examinadora:

Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa (Orientadora)
Doutora em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Daniel Bernardi
Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Moises João Zotti
Doutor em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas

Dra. Gabriela Inés Díez-Rodríguez
Doutora em Entomologia pela Universidade de São Paulo

À minha mãe Luciana, ao meu pai Edson, à minha irmã Lili e ao namorado Flávio pelo apoio, carinho e compreensão. Às companheiras do Laboratório de Entomologia pelo auxílio, companhia e confiança essenciais nesta caminhada.

Agradecimentos

À Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa, pesquisadora da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)- Estação Terras Baixas (ETB), pela orientação, oportunidades oferecidas, conselhos, apoio e amizade.

Ao Prof. Dr. Moises João Zotti, do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas pela coorientação.

À minha família, em especial meus pais Luciana e Edson Carvalho por acreditarem em mim e apoiarem fielmente minhas escolhas. À minha irmã Lili, pelo carinho e incentivos que mesmo a distância foram cruciais nesta etapa.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia da Embrapa por sempre me estimularem e confiarem no meu potencial, principalmente nos momentos difíceis. Especialmente às estagiárias Larissa Longaray Machado, Lauren Timm, Camila Gauger Neitzke, Larissa Erdmann e Daniela Valmorbida.

Ao meu namorado Flávio Bueno, pela paciência, risadas, amizade e apoio inabaláveis. Agradeço também os meus sogros, Eleusa e Justino, por me receberam sempre tão bem e pelos cuidados.

À minha amiga-irmã Júlia Aleixo, pelas madrugadas de estudo, companheirismo e muito bom humor durante todo o mestrado.

À amiga-irmã, estagiária e colega de trabalho Larissa Longaray Machado, pela descontração, pelos ensinamentos, por me lembrar de viver e me escutar sempre.

À Gabi, Maria Rita, Fabi por se fazerem presentes na alegria e na tristeza apesar da distância.

“Admitem-se geralmente que toda arte e toda investigação, assim como toda ação e toda escolha, têm em mira um bem qualquer; e por isso foi dito, com muito acerto, que o bem é aquilo a que todas as coisas tendem.”
Aristóteles

Resumo

CARVALHO, Indyra Faria. **Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de *Spodoptera frugiperda***. 2019. 47f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

A lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* é uma espécie polífaga que pode se alimentar de mais de 80 espécies de plantas, incluindo culturas de importância econômica e social, como o milho, algodão e arroz. Apesar de ser uma praga amplamente estudada, é de difícil controle, o que se deve principalmente à complexidade genética da espécie. *S. frugiperda* possui biótipos, com elevado poder de dispersão e alto poder adaptativo a diversos hospedeiros em estádios fenológicos variados, o que favorece o movimento e sobrevivência dessa praga durante todo o ano, causando o efeito de “ponte verde”. Portanto, é importante selecionar racionalmente plantas hospedeiras adequadas que possam minimizar o efeito da “ponte verde” em resposta à variabilidade genética da espécie. Entender esses caracteres bioecológicos como uma unidade, pode ajudar a prever diferentes respostas fisiológicas e comportamentais do inseto que podem favorecer os programas de MIP, especialmente no que diz respeito à indução / inibição de enzimas de detoxicação, que é um dos principais mecanismos de metabolização de xenobióticos, também envolvido na detoxificação de inseticidas. Diante do exposto, a fim de investigar estratégias de manejo proativo, este estudo teve como objetivo avaliar i) a atividade de enzimas de desintoxicação e ii) a suscetibilidade a inseticidas químicos de populações de *S. frugiperda* de diferentes agroecossistemas em cultivos de verão e inverno simulando o efeito de “ponte verde”. Para a avaliação da eficiência de inseticidas a mortalidade em cada tratamento foi corrigida em relação a testemunha pela fórmula de Abbot (1925), o efeito sinérgico com inseticidas foi avaliado utilizando-se os inibidores DEF e DEM. A atividade de ambas enzimas foi significativamente maior na população Pelotas, do que na população Cascavel. A eficiência dos inseticidas na população Pelotas, foi constante sob o efeito da “ponte verde” testada, no entanto, a população Cascavel aumentou significativamente a eficiência de controle após passar pelo cultivo de inverno (aveia). O uso de sinérgicos não foi efetivo na população Cascavel, mas foi na população Pelotas. As diferenças encontradas podem ser decorrentes do custo adaptativo, do desenvolvimento da resistência em relação ao alimento e aos inseticidas, da intensidade da pressão de seleção e até mesmo do biótipo, portanto o efeito da “ponte verde”, surge como um somatório de variáveis bióticas e abióticas em que a população está inserida.

Palavras-chave: lagarta do cartucho; manejo; hospedeiro; “ponte verde”; populações

Abstract

CARVALHO, Indyra Faria. “**Green bridge**” effect on the enzymatic activity and insecticide control of *Spodoptera frugiperda* populations. 2019. 47f. Dissertation (Master degree in Entomology) – Graduate Program on Entomology, Biology Institute, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2019.

The Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* is a polyphagous noctuid, that can feed on more than 80 plant species, including crops of great economic and social relevance, such as maize, cotton and rice. Despite being widely studied, it is a particularly difficult pest to control, mainly due to the genetic complexity of the species. *S. frugiperda*, which is divided in biotypes, and have high dispersion capacity and fast adaptive power to several hosts plants on varied phenological stages. This favors its movement and survival throughout the year in a phenomenon known as the "bridge green" effect. Therefore, it's important to rationally select proper hosts plants that can minimize the “green bridge” effect in response to the genetic differences’ of FAW biotypes. Understanding these bioecological characters as a unit, can help predict different physiological and behavioral responses in IPM programs, especially regarding the induction / inhibition of detoxification enzymes, which is one of the main mechanisms of plant xenobiotic metabolization, that can also be evolved in insecticides detoxification. Due to the above, in order to investigate proactive IPM strategies, this study aimed to evaluate i) the activity of detoxification enzymes and ii) the susceptibility to chemical insecticides of *S. frugiperda* populations from different agroecosystems in summer and winter crops simulating the “green bridge” effect. Total protein, esterases and glutathione enzyme activity were measured following Bradford (1978), Hemingway (1998) and Harold & Ottea (2000) methods, respectively. Insecticide efficiency, was held using a Potter’s Tower, and total mortality was corrected by Abbot (1925) formula. The synergism effect of enzyme inhibitors DEF and DEM was measured by applying synergist 24 hours before insecticide application. The experiments were done in all host plants along generations, simulating the “green bridge” effect, in two different *S. frugiperda* populations, originally collected in geographically distant regions of Brazil, this being Pelotas and Cascavel. Enzymatic activity was higher in Pelotas populations than Cascavel. Insecticide efficiency in population Pelotas didn’t vary significantly during the green bridge effect tested, although insecticide efficiency in Cascavel populations, was higher after feeding on oat (the winter crop tested) and after returning to maize. Synergism effect was low in Cascavel, but high on Pelotas larvae. We conclude, that those differences may be due a sum of factors, such fitness cost, resistance to allelochemicals from host plants and insecticides, varied selection pressure and the biotype, there for, the green bridge effect turns out to be a response to a sum of biotic and abiotic variables in which a population is inserted.

Keywords: fall armyworm; IPM; host; populations

Lista de Figuras

Figura 1	Esquema ilustrativo do efeito da “ponte verde” com milho e aveia preta.....	43
----------	--	----

Lista de Tabelas

Tabela 1	Atividade enzimática no efeito da "ponte verde" em populações de <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
Tabela 2	Eficiência de inseticidas 120 HAT em diferentes populações de <i>Spodoptera frugiperda</i> no efeito da "ponte verde"	39
Tabela 3	Eficiência de inseticidas após aplicação do sinérgico DEF em populações de <i>Spodoptera frugiperda</i>	39
Tabela 4	Eficiência de inseticidas 120 HAT após aplicação do sinérgico DEM em populações de <i>Spodoptera frugiperda</i>	40
Tabela 5	Eficiência de inseticidas 120 HAT na população de <i>Spodoptera frugiperda</i> oriunda de Cascavel, no efeito da "ponte verde", com e sem os sinérgicos DEF e DEM.....	41
Tabela 6	Eficiência de inseticidas 120 HAT na população de <i>Spodoptera frugiperda</i> oriunda de Pelotas, no efeito da "ponte verde", com e sem os sinérgicos DEF e DEM.....	42

Lista de Abreviaturas e Siglas

AGROFIT	Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
BSA	Albumina Sérica Bovina
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
CDNB	1 1-Cloro 2,4 dinitrobenzeno
CYP	Gene do Citocromo P450
DEF	S, S, S-Tributil fosforotiolato
DEM	Dietil maleato
EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
EST	Esterase
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FAW	Fall Armyworm
GRDC	Grains Research and Development Corporation
GSH	L-Glutationa reduzida
GST	Glutationa-S-Transferase
HAT	Horas Após Tratamento
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MIP	Manejo Integrado De Pragas
PR	Paraná
RS	Rio Grande Do Sul

Lista de Símbolos

<	Menor
>	Maior
≥	Maior ou Igual
®	Marca Registrada
°C	Grau Celsius
~	Aproximadamente

Sumário

1	Introdução.....	14
2	Influência da “ponte verde” na atividade enzimática e eficiência de controle em populações de <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
2.1	Introdução.....	20
2.2	Material e métodos.....	23
2.3	Resultados.....	28
2.4	Discussão.....	30
	Referências.....	34
3	Considerações finais.....	43
	Referências.....	46

1 INTRODUÇÃO

A lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto polífono que se alimenta de mais de 80 espécies de plantas cultivadas, particularmente de espécies da família Poaceae como milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.) (PASHLEY; MARTIN, 1987). No milho, as lagartas, se alimentam do parênquima foliar e se alojam preferencialmente no cartucho do milho, apesar de serem também encontradas em plântulas, onde perfuram o ponto de crescimento, resultando ocasionalmente em perdas total no rendimento da cultura (SARMENTO et al., 2002).

A espécie tem, recentemente, atraído atenção devido aos impactos econômicos preocupantes na cultura do milho no continente Africano. *S. frugiperda* é uma praga nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas, no entanto, em janeiro de 2016 foi relatada pela primeira vez no continente africano onde se expandiu por cerca de 12 países em aproximadamente 2 meses, devido ao alto poder de dispersão da praga (FAO, 2018). Em menos de um ano, em maio de 2018, houve o primeiro registro na Ásia, em campos de milho na Índia e na Holanda e Alemanha, no continente Europeu, a espécie foi interceptada e faz parte da lista de espécies pragas A1 (EPPO, 2018).

O uso de inseticidas constitui sua principal forma de controle, no entanto, devido ao uso contínuo, doses elevadas e alto poder adaptativo, *S. frugiperda* desenvolveu resistência a inúmeras classes de inseticidas químicos e mais recentemente, às proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bt) que vem refletindo em sérios problemas econômicos (CARVALHO et al., 2013; OKUMA et al., 2018; FLAGEL et al., 2018; BOLZAN et al., 2019). No Brasil, por exemplo, estima-se que são gastos cerca de U\$600 milhões por ano para controlar infestações de *S. frugiperda* (WILD, 2017).

Apesar de existirem opções no mercado que sejam efetivas e menos arriscadas para o meio ambiente, elas nem sempre coincidem com o nível

técnico e poder aquisitivo do produtor, portanto, a realidade das estratégias de controle muitas vezes é inconsistente e insatisfatória. Um bom exemplo, que vem sendo adotado, é no caso de infestações de *S. frugiperda* em países africanos, onde a cultura do milho predomina em pequenas propriedades de cultivo, e o uso de inseticidas é mínimo, principalmente devido ao acesso à informação, utilização de produtos efetivos e adoção de práticas de manejo integrado de pragas (KUMELA et al., 2019).

Portanto, nos últimos anos, tem havido a necessidade de desenvolver estratégias de manejo que se adequem aos agricultores a nível regional e que aumentem a mortalidade natural da praga no campo. Para isso uma maior compressão sobre a biologia e ecologia da lagarta do cartucho e suas complexidades são necessárias e, são particularmente importantes para determinação da tomada de decisão, sejam elas preventivas e/ou responsivas com base no contexto de produção em que o agricultor está inserido.

No entanto, uma visão holística de *S. frugiperda* tem se mostrado particularmente difícil, devido à variabilidade genética da espécie, resultantes principalmente da adaptação a planta hospedeira. Essas adaptações resultaram na divisão da espécie em biótipos (biótipos de milho que se alimentam preferencialmente de milho, algodão (*Gossypium hirsuto* L., Malvaceae) e sorgo e o biótipo de arroz (PASHLEY; MARTIN, 1987), mais associado com arroz e diversas pastagens, estes biótipos consistem em indivíduos morfologicamente indistinguíveis, porém diferentes genética e fisiologicamente, como consequência apresentam diferentes respostas no custo adaptativo (fitness) em plantas hospedeiras alternativas, expressão de enzimas de detoxificação, enzimas de digestão, quimiorreceptoras e até mesmo isolamento reprodutivo (GOUIN et al., 2017).

Devido a ampla gama de hospedeiros, o manejo de *S. frugiperda* se torna desafiador, visto que essas plantas têm diferentes estádios fenológicos e são cultivadas em diferentes épocas do ano, o que pode facilitar o movimento e sobrevivência da praga durante e entre o período de safra e safrinha do milho (ROSA et al., 2014). Essa constante disponibilidade de alimento, pode gerar o fenômeno conhecido como “ponte verde”, que de acordo com a

Corporação de Pesquisa e Desenvolvimento de Grãos (GRDC, 2010) da Austrália, é o fenômeno que descreve o papel que plantas daninhas e/ou plantas cultivadas tem em favorecer a sobrevivência de pragas e doenças entre uma safra a outra ou de uma estação a outra. Diversos estudos já demonstraram como hospedeiros alternativos, tais como a planta daninha “corda de viola” (*Ipomoea indica* M., Convolvulaceae) e plantas de cobertura utilizadas no plantio direto e pastagem para alimentação animal, como aveia (*Avena strigosa* S., Poaceae), cornichão (*Lotus corniculatus* L., Fabaceae) e azevém (*Lolium multiflorum* L., Poaceae) podem exercer diferentes respostas no ciclo biológico *S. frugiperda* (DIAS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

O fator hospedeiro, também é conhecido por influenciar a tolerância de *S. frugiperda* a inseticidas, visto que metabólitos secundários, como aleloquímicos de plantas podem alterar o metabolismo dos insetos através da estimulação ou inibição de mecanismos de defesa, como aumento da expressão de enzimas de detoxificação. A detoxificação de xenobióticos por enzimas como Esterases, Glutathione-S-Transferases e P450s é um importante aspecto a ser investigado, visto que podem atuar tanto no metabolismo de toxinas de plantas, quanto no de inseticidas (DÈSPRES et al., 2007).

Associado aos biótipos existem também as diferenças resultantes da diversidade de ambientes, climas e biomas em que *S. frugiperda* pode ser encontrada. No Brasil, por exemplo, as técnicas de manejo de uma cultura, estão em grande parte relacionadas com características climáticas, pedológicas, culturais e pela relação custo benefício (LANDAU et al., 2015). Portanto, é esperado que diferenças regionais influenciem, diretamente na seleção de caracteres como subprodutos da adaptação às condições onde estão inseridas.

Considerando que a gravidade do dano, depende de fatores como período de semeadura, região geográfica, cultivar utilizada e práticas culturais se torna importante conhecer os padrões de respostas a diferentes táticas de manejo, para auxiliar o desenvolvimento de estratégias que possam se adequar aos agricultores e contribuir para a preservação das tecnologias atualmente disponíveis (SARMENTO et al., 2002).

Devido ao exposto, visando investigar estratégias de manejo proativas, foi estudada a atividade enzimática de *S. frugiperda* provenientes de diferentes regiões brasileiras em resposta a alternância de cultivos de verão e inverno,

associada à eficiência de controle com inseticidas utilizados no sistema de produção de grãos. Trata-se do primeiro estudo de avaliação do efeito de hospedeiros, cultivados em diferentes estações do ano sobre a suscetibilidade a inseticidas e atividade enzimática em *S. frugiperda* ao longo das gerações.

2 Artigo

Atividade enzimática de populações de *Spodoptera frugiperda* submetidas a diferentes regimes alimentares: Interpretação para o manejo

Indyra Faria de Carvalho, Camila Gauger Neitzke, Larissa Longaray Machado, Daniela Valmorbida, Larissa Luckow Erdmann, Lauren Timm Oliveira, Ivan Ricardo de Carvalho, Moises João Zotti e Ana Paula Schneid Afonso da Rosa

Será submetido à revista Pest Management Science

Atividade enzimática de populações de *Spodoptera frugiperda* submetidas a diferentes regimes alimentares: Interpretação para o manejo

Indyra F. Carvalho^{a*}, Camila G. Neitzke^b, Larissa L. Machado^b, Daniela Valmorbida^b,
Larissa L. Erdmann^b, Lauren T. Oliveira^b, Ivan R. Carvalho^c, Moises J. Zotti^d e Ana
Paula S. Afonso da Rosa^e

*Correspondence to Indyra Carvalho, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Av. Eliseu Maciel, Capão do Leão - RS, 96050-500 Brazil. E-mail: indyrafaria@gmail.com

^aInstituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.

^bFaculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)- Pelotas,

Rio Grande do Sul

^c Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel)- Pelotas, Rio Grande do Sul

^d Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)-Pelotas, Rio Grande do Sul

^e Embrapa Clima Temperado, Estação Experimental Terras Baixas, Pelotas, Rio Grande do Sul

Background: *Spodoptera frugiperda* é um noctuídeo polífago que pode se alimentar de mais de 80 espécies de plantas. Apesar de ser uma praga amplamente estudada, é de difícil controle, o que se deve principalmente à complexidade genética da espécie. *S. frugiperda* possui biótipos, com elevado poder de dispersão e alto poder adaptativo a diversos hospedeiros em estádios fenológicos variados, o que favorece o movimento e sobrevivência dessa praga durante todo o ano, gerando o efeito de “ponte verde”. Entender esses caracteres bioecológicos como uma unidade, pode ajudar a prever diferentes respostas fisiológicas e comportamentais em programas de MIP, especialmente no que diz respeito à indução / inibição de enzimas de desintoxicação, que é um dos principais mecanismos de metabolização de xenobióticos, também envolvido na detoxificação de inseticidas. Diante do exposto, a fim de investigar estratégias de manejo proativo, este estudo teve como objetivo avaliar i) a atividade de enzimas de desintoxicação e ii) a suscetibilidade a inseticidas químicos de populações de *S. frugiperda* de diferentes agroecossistemas em cultivos de verão e inverno simulando o efeito da “ponte verde”.

Resultados: A atividade enzimática foi significativamente maior na população Pelotas, do que na população Cascavel. A eficiência dos inseticidas para a população Pelotas, foi constante sob o efeito de “ponte verde” testado, no entanto a população Cascavel aumentou significativamente a eficiência de controle após passar pelo cultivo de inverno (aveia). O uso de sinérgicos não foi efetivo na população Cascavel, mas foi na população Pelotas.

Conclusões: A atividade enzimática da população Pelotas foi maior do que a da população Cascavel em todos alimentos. O efeito da “ponte verde”, na primeira geração

em aveia preta (F4) aumentou a eficiência de controle na população Cascavel.

2. 1 INTRODUÇÃO

A lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas, que tem atraído atenção devido à sua recente detecção na África Central e Ocidental (2016). Desde então, sua presença foi relatada em quase todo o continente africano e em alguns países asiáticos, como Índia e Paquistão, tornando-a uma praga de importância mundial.

O uso de inseticidas constitui a principal forma de controle, mas devido ao uso contínuo, doses elevadas e alto poder adaptativo da espécie, *S. frugiperda* desenvolveu resistência a inúmeras classes de inseticidas químicos. Apesar de existirem opções no mercado que sejam efetivas e menos arriscadas para o meio ambiente, elas nem sempre coincidem com o nível técnico e poder de compra do produtor, portanto a realidade das estratégias de controle muitas vezes é inconsistente e insatisfatória para controle das infestações.

A lagarta do cartucho é um inseto polígrafo que se alimenta de mais de 80 espécies de plantas cultivadas, preferencialmente de espécies da família Poaceae como milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e arroz (*Oryza sativa* L.). A ampla gama de hospedeiros presentes em diferentes estações e estádios fenológicos ao longo do ano, pode facilitar o movimento e sobrevivência da praga durante quando em que a gerando o efeito de “ponte verde”. Atualmente existem uma gama de estudos que demonstraram como hospedeiros alternativos, tais como a planta daninha “Corda de Viola” (*Ipomoea indica* M., Convolvulaceae) e plantas de cobertura utilizadas no plantio direto e pastagem para alimentação animal, como aveia (*Avena strigosa* S.,

Poaceae), cornichão (*Lotus corniculatus* L., Fabaceae), azevém (*Lolium multiflorum* L., Poaceae) podem exercer diferentes respostas na sobrevivência, aumento da população e desenvolvimento de *S. frugiperda*.

Estudos demonstram como insetos polívoros necessitam de diversidade na composição nutricional, mais especificamente, aminoácidos e lipídios, que são importantes precursores na síntese de proteína, feromônios e neuropeptídios.⁸ No entanto, grande parte destes estudos avaliam o efeito do hospedeiro sob o ciclo de vida e reprodução da praga de forma individual, não considerando o efeito cumulativo de um hospedeiro ao outro ao longo das gerações.

O efeito da “ponte de verde” é importante, pois a qualidade nutricional entre um cultivo e outro pode favorecer a permanência e sobrevivência no campo ou alterar as respostas a medidas de supressão da praga.⁵ Diversos estudos, demonstram que a tolerância e suscetibilidade a inseticidas pode variar de acordo com a alimentação.⁹⁻¹² Isso ocorre porque a planta hospedeira pode alterar o metabolismo dos insetos, através da estimulação ou inibição de mecanismos de defesa, como o aumento da expressão de enzimas de detoxificação tais como Esterases, Glutathione-S-Transferases e P450s. Estas enzimas atuam no metabolismo de xenobióticos ou metabólitos secundários produzidos pela planta, que também é um dos principais mecanismos envolvidos na resistência a inseticidas químicos.¹³

Devido a estreita dinâmica com o hospedeiro, *S. frugiperda* é classificada em biótipos, o biótipo de milho se alimenta preferencialmente de milho, algodão (*Gossypium* L., Malvaceae) e sorgo e o biótipo de arroz, tem preferência por arroz e espécies de gramíneas.¹⁴ No Brasil, ambos biótipos estão presentes e podem apresentar compatibilidade sexual restrita, embora haja o acasalamento, indicando um processo inicial de especiação associado, principalmente, ao hospedeiro.¹⁵⁻¹⁷ Híbridos destes

biótipos também podem se comportar de forma diferente aos progenitores, e estes são potencialmente importantes, pois adicionam um padrão diferente na dinâmica de populações de *S. frugiperda*.¹⁷

Os biótipos são morfologicamente indistinguíveis, mas diferem geneticamente e fisiologicamente, resultando em diferentes respostas ao custo adaptativo em plantas hospedeiras, expressão de enzimas de detoxificação, enzimas de digestão, quimiorreceptoras e até mesmo isolamento reprodutivo e, portanto, podem gerar diferentes respostas no manejo da cultura e medidas de supressão a campo.¹⁸

A combinação de variáveis, geralmente não são consideradas no contexto do manejo de *S. frugiperda*, no Brasil, por exemplo, a mesma recomendação é feita de Norte a Sul do país, desconsiderando a diversidade de biomas e plantas hospedeiras em que *S. frugiperda* pode se estabelecer, a presença de biótipos, seus híbridos e até mesmo a diferente pressão de seleção em que estas populações se encontram, resultantes principalmente da intensidade do manejo da cultura do milho, que varia muito de região para região.^{19, 20} Portanto, é de se esperar que o conjunto de fatores irá gerar diferentes respostas no manejo integrado dessa praga e devem ser planejados a nível regional.

Devido ao exposto, visando investigar estratégias de manejo proativas, foi estudada a atividade de enzimas de detoxificação e resposta ao controle de *S. frugiperda* provenientes de diferentes agroecossistemas brasileiros decorrentes da alternância de cultivos de verão e inverno envolvidos no fenômeno da “ponte verde”. Trata-se do primeiro estudo envolvendo o efeito de hospedeiros cultivados em diferentes estações do ano sobre a atividade enzimática e controle químico ao longo das gerações de *S. frugiperda*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Insetos

As populações de *S. frugiperda* foram coletadas em Pelotas, Rio Grande do Sul (população Pelotas) (31°38'12"S, 52°28'15.1"O) e na cidade de Cascavel, Paraná (população Cascavel) (24° 57' 21" S e 53° 27' 19" O). Uma criação estoque foi mantida no Núcleo de Bioeficiência da Embrapa Clima Temperado, no Município de Capão do Leão, RS, em sala climatizada a 25±1°C, com umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial de Greene et al. (1976)²¹, e a criação seguiu o método descrito por Parra (2001).²²

2.2.2 Hospedeiros

A planta hospedeira de inverno foi aveia preta (*Avena strigosa* S., Poaceae) (BRS139 Neblina) e a de verão foi o milho (*Zea mays* L., Poaceae) (AG 9045). A aveia foi semeada em bandejas de plástico (30,0 x 20,0 x 6,00 cm) e mantida em sala climatizada sob temperatura de 18°C, umidade de 70% e fotoperíodo de 10 horas, regadas diariamente. Após atingirem 10– 20 cm de altura as mesmas foram utilizadas para alimentação das lagartas. O milho por sua vez foi semeado em baldes (20 L) preenchido com solo e mantido em casa-de-vegetação até o estágio V3 (40 dias após a emergência), quando foram fornecidos para as lagartas.

2.2.3 Efeito da “ponte verde”

Para avaliar o efeito cumulativo do hospedeiro de verão (milho) e hospedeiro de inverno (aveia preta) ao longo das gerações, lagartas neonatas de cada população foram transferidas individualmente da dieta artificial para bandejas plásticas com 16 cavidades (2,8 x 4,1 x 1,6cm) (B16-Biossupply) contendo uma folha de milho (5cm x 3cm), estabelecendo-se a geração P1. Após duas gerações no milho (F1 e F2), as posturas

oriundas de F2 foram transferidas para potes de 200mL contendo aveia preta, estabelecendo-se as gerações F3 e F4 no cultivo de inverno. Posteriormente posturas oriundas de F4 retornaram ao hospedeiro de verão (milho) onde foram conduzidas até F6. As criações foram mantidas em sala climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas durante toda a avaliação.

Para os bioensaios enzimáticos foram utilizadas lagartas de 3^o instar provenientes da segunda geração, de acordo com a dieta utilizada [F2 (milho), F4 (aveia) e F6 (milho)]. Os bioensaios foram realizados também no alimento artificial, em lagartas mantidas na dieta de Greene et al. (1976)²¹ como forma de controle.

2.2.4 Atividade Enzimática

2.2.4.1 Produtos químicos

Os substratos utilizados para medição da atividade enzimática e produtos das reações usadas na preparação das curvas padrão foram fosfato de sódio (monobásico e dibásico; 99% de pureza, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), albumina sérica bovina (BSA; Sigma Aldrich, St. Louis, MO), Fast Blue B (90% de pureza, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), Acetona (99,7% de pureza, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), 1-Naphthyl acetato (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), L-glutathiona reduzida (GSH; 98%), 1 1-cloro 2,4 dinitrobenzeno (CDNB; 99% de pureza, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), Metanol (99,8% de pureza, Sigma Aldrich, St. Louis, MO).

Os sinérgicos utilizados para inibição de inibidores de esterases foi o S, S, S-Tributil fosforotiolato (DEF, 97% de pureza, Sigma-Aldrich Dorset, UK) e para inibição da GSTs foi o Dietil Maleato (DEM; 97% de pureza, Sigma Aldrich, Dorset, UK).

2.2.4.2 Extração das proteínas

A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford (1978).²³ Nos ensaios foram utilizadas 24 lagartas de 3º instar (~0,9 cm de comprimento) de cada população, provenientes do hospedeiro milho, aveia, e dieta artificial. As mesmas foram dispostas em grupos de 3 (~40 mg), ainda vivas, em tubos tipo Eppendorf de 1,5mL previamente numerados, sobre gelo. Os insetos foram homogeneizados em 400µL de tampão fosfato 0,1M pH7,0 com o auxílio de um bastão, por 15 segundos e em seguida foram centrifugadas a 12.000g a 4°C por 15 min. O sobrenadante das amostras foi coletado e diluído em 400µL de tampão pH7,0 (0,1M) mantidas no gelo de forma a reduzir a proteólise.²⁵ Aliquotas de 10µL do sobrenadante de cada homogenato foram distribuídas em triplicatas em uma microplaca de 96 poços (Thomas Scientific nº cat.: 6106U0) e adicionados 190uL de Bradford. Nos poços correspondentes aos “brancos” foram utilizadas 10uL de tampão pH7,0 e 190µL de Bradford. A leitura pontual foi realizada a 595nm no espectrofotômetro com leitor de microplacas (Versa-Max, da Molecular Devices).

2.2.4.3 Enzima esterase

A atividade de esterases não específicas foi medida pelo método de Harold & Ottea (2000)²⁴, avaliando a produção de alfa-naftol. Em vidro âmbar, sobre o gelo, foi preparada uma solução contendo 600µL de alfa-naftil acetato e 30mL Fast Blue B, 15 minutos antes do início da leitura. Em seguida 10µL do sobrenadante de cada homogenato e 240µL da solução contendo o substrato (α -Naftil Acetato + Fast Blue B) foram distribuídos em triplicata nas microplacas de 96 poços. Em cada um dos poços correspondentes aos “brancos” foi adicionado 10µL de tampão pH7,0 e 240µL (α -Naftil Acetato + Fast Blue B). A leitura cinética (endpoint) foi realizada a 595nm no espectrofotômetro com leitor de microplacas (Versa-Max, da Molecular Devices) a 30°C, por 10 minutos em intervalos de

15 segundos.

2.2.4.4 Enzima glutationa

A curva padrão da glutationa-S-transferase foi medida pelo método de Hemingway (1998).²⁵ Em vidro âmbar, sobre o gelo, foi preparada a solução de trabalho contendo 1mL de CDNB e 20mL de GSH, 15 minutos antes do início da leitura. Em seguida 15µL do sobrenadante de cada homogenato e 195µL da solução de trabalho, foram distribuídos em triplicata nas microplacas de 96 poços. Em cada um dos poços correspondentes aos “brancos” foi adicionado 15µL de tampão pH6,5 (0,1M) e 195µL de CDNB/GSH. A leitura cinética (endpoint) foi realizada a 340nm no espectrofotômetro com leitor de microplacas (Versa- Max, da Molecular Devices) a 25°C, por 20 minutos em intervalos de 60 segundos.

2.2.4.5 Bioensaios com sinérgicos

Os bioensaios de sinergismo foram realizados em 125 lagartas de cada população, oriundas do seu respectivo hospedeiro. Uma solução de 1µL a 1000 mgkg⁻¹ (Inibidor + acetona 99,7%) foi aplicada separadamente, na face dorsal do pronoto das lagartas de 3ºinstar (~0,9 cm) com o auxílio de um microaplicador manual (Burkard Scientific) Após 24 horas os bioensaios de suscetibilidade (item 2.5.2) foram realizados com todos os inseticidas testados para cada um dos inibidores.

2.2.5 Resposta ao controle químico

2.2.5.1 Inseticidas

Os inseticidas e concentrações avaliados foram etofenproxi (Safety[®])(300g i.a. L⁻¹, piretróide), tiametoxam (141g i.a. L⁻¹, neonicotinoide) + lambdacialotrina (Engeo Pleno[®])(106g i.a. L⁻¹, piretróide), espinosade (Tracer[®]) (480g i.a. L⁻¹, espinosinas), metomil (215gi.a. L⁻¹, metilcarbamato de oxima) (Upmyl[®]), e como controle foi utilizado água destilada. Os tratamentos foram estabelecidos de acordo com o modo de ação, como medidas de manejo da resistência, conforme preconizado pelo Comitê de Ação a

Resistência a Inseticidas (IRAC-BR, 2018),¹³ utilizando os produtos e doses registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (AGROFIT, 2018).²⁰

2.2.5.2 Bioensaios de suscetibilidade

Lagartas de 3º instar (~0,9 cm de comprimento) da população Pelotas e da população Cascavel, provenientes de cada regime alimentar foram submetidas a bioensaios de contato direto por pulverização em “Torre de Potter” (Burkard Scientific, Uxbridge, UK), previamente calibrada para aplicação de 1mL de calda, a uma pressão de 10 bar, correspondente a uma deposição de $2,499 \pm 0,305 \text{ mg cm}^{-2}$ sobre as lagartas acondicionadas em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro). A ordem de aplicação dos inseticidas foi casualizada, ocorrendo a tríplice lavagem da torre de Potter, com água e álcool 95% sendo posteriormente secas com o auxílio de papel toalha descartável, entre os tratamentos.

Após cada pulverização, as lagartas foram individualizadas em potes descartáveis de poliestireno com capacidade de 100mL contendo cortes da planta hospedeira (2cm x 5cm). O alimento foi repostado a cada 24 horas e os tratamentos mantidos em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase/14h. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizado e cada tratamento com 25 repetições.

A mortalidade foi avaliada 120 horas após o tratamento (HAT), utilizando a ausência de movimentos coordenados quando tocadas com o auxílio de um pincel, como critério de morte. Os dados de porcentagem de mortalidade foram calculados de acordo com a fórmula de Abbott (1925)²⁶ e somente os inseticidas que obtiveram mortalidade em relação a testemunha maior ou igual a 80,0% foram considerados eficientes²⁶.

2.2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos às pressuposições do modelo estatístico, onde verificou-se a homogeneidade e normalidade das variâncias residuais (proc univariate), bem como a aditividade do modelo. Posteriormente, realizou-se a análise de variância a

5% de probabilidade pelo teste F com a finalidade de identificar interação entre os hospedeiros x ambientes de origem (proc glm). As interações significativas foram desmembradas aos efeitos simples evidenciando as respostas diferenciais dos fatores de variação estudados. Quando não significativa a interação procedeu-se o desmembramento aos efeitos principais por análises complementares utilizando a comparação múltipla de médias por Tukey a 5% de probabilidade. O software utilizado foi o SAS versão 9.3.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Atividade da Esterase

A atividade da esterase foi maior em lagartas da população Pelotas do que na população Cascavel, com exceção das lagartas oriundas da dieta artificial, em que não houve diferença significativa entre tratamentos (Tabela 1). Na população Pelotas, lagartas oriundas do milho (F2 e F6) ($451 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$ e $387 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$ respectivamente) apresentaram atividade da esterase significativamente menores do que na aveia (F2) ($787 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$) e dieta artificial ($565 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$) ($P < 0,001$). Já a população Cascavel, teve maior atividade no milho (F4) ($\text{nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$) e na aveia (F4) ($258 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$), sendo a última geração no milho (F6) ($\text{nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$) ($P < 0,001$) a de menores valores de naftol formado por min.

2.3.2 Atividade da Glutathione-S-Transferase

A atividade da glutathione-s-transferase, foi maior na população de Pelotas em todos os alimentos, com exceção das lagartas oriundas da dieta artificial, onde não houve diferença significativa entre tratamentos (Tabela 1). Na população Pelotas, a aveia foi o alimento que proporcionou maior atividade da GST ($22 \text{ nmolmin}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$) ($P < 0,001$), sendo significativamente menor no milho (F2) ($14,01 \text{ } \mu\text{mol/min/mg proteína}$) ($P < 0,001$) e (F6)

(7,09 nmolmin⁻¹mg proteína⁻¹) ($P < 0,001$). Já a população de Cascavel também obteve a menor atividade enzimática da GST na última geração no milho (F6) (3,62 nmolmin⁻¹mg proteína⁻¹) ($P < 0,001$), quando comparadas aos outros alimentos, para a população Cascavel não houve diferença significativa entre o milho (F2) (9,07 nmolmin⁻¹mg proteína⁻¹) ($P < 0,001$), aveia (F4) (10,14 nmolmin⁻¹mg proteína⁻¹) ($P < 0,001$) e dieta artificial (11,60 nmolmin⁻¹mg proteína⁻¹) ($P < 0,001$).

2.3.3 Eficiência de controle das populações

Neste estudo, somente o inseticida metomil, promoveu mortalidade maior que 80,0%, independente do alimento, e populações, com exceção da F2 do milho, onde a eficiência de controle foi significativamente maior na população Pelotas (93,4%) do que na população Cascavel (81,6%) ($P < 0,001$) (Tabela 2). A eficiência de controle do restante dos inseticidas, foi baixa nas populações, na primeira geração do milho (F2) e em grande maioria após a aveia (F4) e na geração F6 do milho (Tabela 3 e 4).

Com exceção do inseticida etofenproxi, a diferença da eficiência de controle dos inseticidas entre populações, não diferiu significativamente quando alimentadas em dieta artificial ($P < 0,11$), no entanto, o mesmo não aconteceu no alimento natural, principalmente após o período de alimentação em aveia (F4) em que a população Cascavel, mostrou aumento significativo da eficiência de controle em todos os inseticidas testados (Tabela 2), para etofenproxi, por exemplo, a mortalidade em milho (F2) foi de 5,6%, na aveia (F4) foi de 100,0% e 88,0% quando retornou ao milho (F6). O mesmo não ocorreu para a população oriunda de Pelotas, onde a eficiência de controle se manteve baixa (>80,0%), apesar de ter aumentado significativamente em aveia preta e na última geração no milho (F6) (Tabela 3 e 4).

2.3.4 Eficiência de controle com sinérgicos

A eficiência de controle com sinérgicos variou de acordo com o inseticida testado (Tabela 4). DEF foi o sinérgico que aumentou, significativamente, a eficiência de controle do espinosade, etofenproxi, lambdacialotrina+ tiametoxam e metomil nas populações Pelotas e Cascavel alimentadas com milho (F2).

Em aveia preta, as populações diferiram significativamente com a adição do sinérgico DEF + espinosade e do sinérgico DEM + etofenproxi, DEM + lambdacialotrina e DEM + metomil (Tabela 3-4). Neste alimento, o sinérgico DEM foi o que proporcionou aumento da eficiência de controle dos inseticidas, com exceção do metomil na população Pelotas, já na população Cascavel o sinergismo só ocorreu no tratamento DEF + lambdacialotrina+tiametoxam (Tabela 6).

Ao retornarem para o milho (F6), o maior sinergismo ocorreu com o DEM em todos os inseticidas na população Pelotas, e somente no tratamento DEM + lambdacialotrina+tiametoxam na população Cascavel (Tabela 5-6).

2.4. Discussão

Os resultados indicaram diferenças significativas na expressão das principais enzimas de detoxificação entre populações geograficamente distantes, o que é esperado considerando as diferenças no agroecossistema de onde foram coletadas as lagartas. Em Cascavel, PR, o cultivo do milho é caracterizado por um sistema intensivo e tecnológico, que utiliza milho *Bt* ao longo de todo o ano, devido as condições climáticas favoráveis, e o agroecossistema de Pelotas, RS, onde o cultivo do milho é menos intensivo, sendo alternado com a cultura da soja e arroz no verão e no inverno (período de elevada precipitação pluviométrica e temperaturas baixas) predominando o cultivo de espécies forrageiras para alimentação animal.^{27,28}

Diferenças entre os agroecossistemas podem resultar em diferentes adaptações às

plantas hospedeiras e outros fatores abióticos, específicos do histórico e manejo de pragas. A pressão de seleção pode ocorrer em diferentes intensidades, levando à evolução paralela de populações da mesma espécie, podendo implicar na seleção de caracteres como subprodutos da adaptação às condições ambientais onde estão inseridas.^{29,30}

No Brasil e na Argentina, já foram relatados diferenças significativas no desenvolvimento (ciclo de vida, fertilidade e viabilidade) e reprodução de lagartas de *S. frugiperda*, coletadas em diferentes regiões. Nestes estudos, as diferenças foram significativamente relacionadas ao isolamento geográfico, onde foi observado que a diferenciação genética aumentou em consequência do aumento da distância, devido à uma limitação do fluxo gênico.³¹⁻³⁴

A presença dos biótipos e seus híbridos também é um fator a ser ressaltado, no Rio Grande do Sul, por exemplo, os biótipos de milho e arroz estão presentes e apresentaram compatibilidade reprodutiva limitada, embora haja acasalamento, considerando-se o histórico da região, pode-se inferir que a diferença na atividade dessas enzimas seja reflexo das diferenças genéticas dos biótipos.³²

Em 2017, com o sequenciamento completo do genoma de *S. frugiperda*, foi evidenciado que o biótipo de arroz apresentou diferenças significativas no seu genoma, em relação ao biótipo de milho, principalmente em relação aos genes ligados a especialização alimentar e polifagia. Neste estudo, o biótipo de arroz apresentou cerca de 4 genes CYPs, 6 genes EST e 1 gene GST a mais do que o biótipo de milho.¹⁸ Devido ao exposto e considerando a diferença significativa na atividade enzimática entre as populações avaliadas é possível, que as lagartas de Cascavel e Pelotas, sejam de diferentes biótipos ou até mesmo híbridos, e apesar de não ser foco deste trabalho, é um aspecto importante a ser investigado.

Diferenças nas atividades enzimáticas, no entanto, podem ser decorrentes à diversidade de substratos que essas enzimas de detoxificação podem ter, o que resulta em diferentes padrões de indução e inibição enzimática. A aveia também, produz importantes metabólitos secundários nos vacúolos de suas folhas, tais como flavonoides (*C*-pento-hexoside (maioria), luteolin-*C*-pento-hexoside e *O*-metil-apigenin-*O*-deoxihexoside-*C*-hexoside) e saponisinas, que são esteróis alcaloides, com uma diversidade de atividade antimicrobianas, alopáticas e repelentes de insetos.³⁵ Esses compostos podem desfavorecer os parâmetros biológicos como reprodução e digestão, além de serem fortes indutores de enzimas P450s, esterases e GSTs em *S. frugiperda*, até mesmo em baixas concentrações.^{36,37,6}

No entanto, neste estudo os níveis de esterase e glutatona da população Pelotas foram significativamente maiores em todos os alimentos em relação à população Cascavel, apesar da resposta ao alimento ter sido variada sob as mesmas condições ambientais e mesmo hospedeiro ao longo das gerações. Por exemplo, a população Pelotas apresentou alta atividade de esterases no milho, inclusive após a passagem pelo cultivo de inverno, enquanto a população Cascavel, apresentou maior atividade dessas enzimas na aveia, diminuindo significativamente quando retornou ao milho no verão.

Estes resultados podem ser explicados, não só pela indução enzimática proporcionada pela alimentação das lagartas na aveia ou pelas diferenças genéticas dos biótipos, mas também pela adaptação da população Pelotas neste alimento, visto que o cultivo de aveia é comum no Rio Grande do Sul e ao retornar para o milho, a aveia não é um fator significativo prejudicial na reestruturação dessa população no campo. No agroecossistema de Cascavel, não é comum o cultivo da aveia, portanto o aumento da atividade enzimática neste alimento pode ter sido uma resposta imediata a aleloquímicos e xenobióticos que antes não eram expostos na sua alimentação.

Grande parte dos estudos biológicos em hospedeiros alternativos são isolados e não consideram o efeito cumulativo de um alimento ao outro, característico de sistemas de produção. Grande parte dos estudos com aveia, por exemplo, não considera o fator biótipo ou adaptativo das populações, nestes estudos a sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda*, alimentada na aveia diminuiu em cerca de 30% quando comparada ao milho, principalmente devido aos baixos valores nutricionais da aveia.⁶ O que leva ao questionamento se as populações aqui avaliadas, responderiam da mesma forma em estudos biológicos, visto que a população Pelotas, aparenta ser consideravelmente tolerante a planta de aveia em comparação a população Cascavel.

Neste sentido, passa a se considerar o efeito de “ponte verde”, no controle dessas populações. A eficiência de controle na primeira geração do milho (F2) foi baixa para todos os inseticidas avaliados, com exceção do metomil, em ambas populações (81,6% e 93,4% em Pelotas e Cascavel, respectivamente). Estes resultados podem apontar para a evolução da resistência a esses inseticidas nas populações oriundas de Pelotas e Cascavel, principalmente devido ao uso constante destes produtos nas lavouras de milho, com exceção do metomil, que é um inseticida pouco usado devido à alta periculosidade (Classe I-altamente tóxico).

A resistência, ou melhor, tolerância, visto que este também não foi o foco do nosso trabalho, deve ser considerada nesta discussão, pois pode ocorrer nas populações de forma qualitativa, ou seja, pela alteração estrutural do genoma da população, como é o caso de mutações, ou de forma quantitativa, pela amplificação gênica, como é o caso da indução de um gene, resultando no aumento da produção de um transcrito enzimático.³⁷ De ambas as formas, a resistência pode potencializar os fatores, associados aos biótipos e hospedeiros aqui descritos, como também pode resultar em um custo adaptativo dessas populações (*fitness cost*) frente a situações em que não estão habituadas, como pode ser o caso da

população Cascavel, alimentada na aveia preta.

Os resultados apontaram que a tolerância das lagartas alimentadas com milho (F2) aos inseticidas, foi significativamente maior na população Cascavel do que na população Pelotas, no entanto, após as gerações na aveia (F4), a tolerância a esses produtos diminuiu consideravelmente, aumentando a eficiência de todos os inseticidas testados, diferente do que ocorreu na população Pelotas, em que a eficiência na aveia (F2) e milho (F6) aumentou mas se manteve a baixo de 80,0% ao longo das gerações. Quando a população Cascavel retornou para o milho na (F6), a eficiência de controle com espinosade, etofenproxi e metomil se manteve elevadas, enquanto que na população Pelotas, a aveia, pouco influenciou na eficiência de controle.

Cabe lembrar que a população Pelotas, também apresentou atividade elevada de esterases e GSTs em todos os alimentos, incluindo no milho (F2) e a inibição enzimática através do uso de sinérgicos, não foi efetiva na população Cascavel, mas foi na população Pelotas, que pode ser resultado do custo adaptativo, do desenvolvimento da resistência ao alimento e aos inseticidas, da intensidade da pressão de seleção e até mesmo do biótipo, portanto o efeito proporcionado pela “ponte verde”, surge como um somatório de variáveis bióticas e abióticas em que a população está inserida.

Referências

- ¹ EPPO Global Database. (<<https://gd.eppo.int/taxon/LAPHFR/reporting>>).
- ² Food and Agriculture Organization of the United Nations. Integrated management of the fall armyworm on maize: a guide for farmer field schools in Africa. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp.139 (2018)
- ³ Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodríguez-Maciel JC, et al. Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. *J Econ Entomol* (2018).
- ⁴ Pashley DP, Martin JA. Reproductive Incompatibility Between Host Strains of the Fall

Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*; v.**80**:731–743(1987).

- ⁵ GRDC-Grains Research and Development Corporation
([www.grdc.com.au/GRDC-FS- GreenBridge](http://www.grdc.com.au/GRDC-FS-GreenBridge))
- ⁶ Dias AS, Marucci RC, Mendes SM, Moreira SG, Araújo OG, Santos CA dos, et al. Bioecology of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1757) in different cover crops. *Biosci. j.* v. **32**:337–345 (2016).
- ⁷ Silva DM da, Bueno A de F, Andrade K, Stecca C dos S, Neves PMOJ, Oliveira MCN de.
Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. *Sci. Agric.* v.**74**:18–31 (2017).
- ⁸ Awmack CS, Leather SR. Host Plant Quality and Fecundity in Herbivorous Insects. *Annu. Rev. Entomol.*; v.**47**:817–44(2002).
- ⁹ Wood KA, Wilson BH, Graves JB. Influence of Host Plant on the Susceptibility of the Fall Armyworm to Insecticides1. *J Econ Entomol*; v.**74**:96–8. (1981).
- ¹⁰ Yu SJ. Detection and Biochemical Characterization of Insecticide Resistance in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol*; v.**85**:675–82. (1992).
- ¹¹ Adamczyk JJJ, Leonard BR, Holloway JW. Susceptibility of fall armyworm collected from different plant hosts to selected insecticides and transgenic Bt cotton. *J. Cotton Sci.*v**1**:21-28 (1997).
- ¹² Leon-Garcia, I., Rodriguez-Leyva, E., Ortega-Arenas, L. D., Solis-Aguilar, J. F. Insecticide susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associated with turfgrass at Quintana Roo, Mexico. *AgroSciences*, v.**46** 279-287 (2012).
- ¹³Insecticide Resistance Action Committee (IRAC)
(<https://www.iraconline.org/about/resistance/mechanisms/>)
- ¹⁴ Nagoshi RN, Murúa MG, Hay-Roe M, Juárez ML, Willink E, Meagher RL. Genetic Characterization of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains in Argentina. *J Econ Entomol*; v. **105**:418–428 (2002).
- ¹⁵ Busato GR, Zotti MJ, Giolo FP, Garcia MS, Grützmacher AD. Biología comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. *Neotrop. Entomol.*; v.**34**:743–50 (2005).
- ¹⁶ Juárez ML, Murúa MG, García MG, Ontivero M, Vera MT, Vilardi JC, et al. Host association of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) corn and rice strains in Argentina, Brazil, and Paraguay. *J Econ Entomol*; v.**105**:573–582

(2012).

- ¹⁷ Prowell DP, McMichael M, Silvain J-F. Multilocus Genetic Analysis of Host Use, Introgression, and Speciation in Host Strains of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* v.**97**:1034–1044. (2004).
- ¹⁸ Gouin A, Bretaudeau A, Nam K, Gimenez S, Aury J-M, Duvic B, et al. Two genomes of highly polyphagous lepidopteran pests (*Spodoptera frugiperda*, Noctuidae) with different host-plant ranges. *Sci. Rep.*; v**7**: 1-12. (2017).
- ¹⁹ FILHO, I. A. P. **Sistemas de Produção Embrapa.**
(https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistema_sdeproducaolf6_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=vie w&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=7905&p_r_p_-996514994_topicoId=8658)
- ²⁰ MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
(http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)
- ²¹ Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA. Velvetbean Caterpillar: A Rearing Procedure and Artificial Medium. *J Econ Entomol*; v. **69**:487–488 (1976).
- ²² Parra, J.R.P. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Piracicaba, ESALQ/FEALQ, p.p137.(2001)
- ²³ Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*; v. **72**:248–254 (1976).
- ²⁴ Harold JA, Ottea JA. Characterization of esterases associated with profenofos resistance in the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (F.). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*; v.**45**:47–59 (2000).
- ²⁵ Hemingway J, Karunaratne SH. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. *Med Vet Entomol*; v. **12**:1–12 (1998).
- ²⁶ Abbott WS. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide.
J Econ Entomol; v. **18**:265–7. (1925).
- ²⁷ Atlas Socioeconômico do Rio Grande do Sul
(<https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/milho>).
- ²⁸ IPARDES - Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social.(http://www.ipardes.gov.br/index.php?pg_conteudo=1&cod_noticia=943)

- ²⁹ Sandoval CP, Crespi BJ, Nosil P. Host-plant adaptation drives the parallel evolution of reproductive isolation. *Nature*; v. **417**:440–3. (2002).
- ³⁰ Nagoshi RN, Meagher RL. Review of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Genetic Complexity and Migration. *Flen*; v. **91**:546–55. (2008).
- ³¹ Martinelli S, Clark PL, Zucchi MI, Silva-Filho MC, Foster JE, Omoto C. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. *Bull. Entomol. Res.*; v.**97**: 225–231. (2007).
- ³² Busato GR, Grützmacher AD, Oliveira AC de, Vieira EA, Zimmer PD, Kopp MM, et al. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. *Neotrop. Entomol.*; v.**33**:709–716. (2004).
- ³³ Nagoshi RN, Murúa MG, Hay-Roe M, Juárez ML, Willink E, Meagher RL. Genetic Characterization of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains in Argentina. *J Econ Entomol.* v. **105**:418–428. (2012).
- ³⁴ Pinto C., Borges CT, Arge LWP, Mendes SM, Manica-Berto R, Rosa APSA da Grützmacher AD, et al. Diversidade molecular entre populações de *Spodoptera frugiperda* no Brasil avaliada por marcadores AFLP. *Pesqui Agropecu Bras.*; v.**50**:343–6. (2015).
- ³⁵ Bahraminejad S, Asenstorfer RE, Riley IT, Schultz CJ. Analysis of the Antimicrobial Activity of Flavonoids and Saponins Isolated from the Shoots of Oats (*Avena sativa* L.). *J. Phytopathol.*; v.**156**: 2-7 (2007).
- ³⁶ Wheeler GS, Slansky F, Yu SJ. Fall armyworm sensitivity to flavone: Limited role of constitutive and induced detoxifying enzyme activity. *J Chem Ecol.*; v.**19**:645–67. (1993).
- ³⁷ Satoh T, Hosokawa M. Structure, function and regulation of carboxylesterases. *Bioavailability Proc.*; v.**162**:195–211 (2006)

Tabela 1- Atividade enzimática no efeito de verde em população de *Spodoptera frugiperda*

Hospedeiro	Proteína (mg) (\pm EP)	
	Pelotas	Cascavel
Milho (F2)	0,11* \pm 0,00 bB	0,144 \pm 0,00 cA
Aveia (F4)	0,08 \pm 0,00 cB	0,195 \pm 0,00 abA
Milho (F6)	0,08 \pm 0,00 cB	0,211 \pm 0,00 aA
Dieta	0,19 \pm 0,00 cB	0,185 \pm 0,01 bA
Hospedeiro	Esterase (nmolmin ⁻¹ mg proteína ⁻¹) (\pm EP)	
	Pelotas	Cascavel
Milho (F2)	451,728 \pm 24,26 cA	307,421 \pm 13,05 bB
Aveia (F4)	787,445 \pm 40,65 aA	258,721 \pm 12,99 bB
Milho (F6)	387,857 \pm 12,78 cA	154,813 \pm 07,75 cB
Dieta	565,344 \pm 37,74 bA	489,484 \pm 42,76 aB
Hospedeiro	Glutationa (nmolmin ⁻¹ mg proteína ⁻¹) (\pm EP)	
	Pelotas	Cascavel
Milho (F2)	14,017 \pm 1,81 bA	09,077 \pm 0,39 aB
Aveia (F4)	22,207 \pm 1,63 aA	10,147 \pm 1,19 aB
Milho (F6)	07,098 \pm 0,19 cA	03,625 \pm 0,07 bB
Dieta	12,347 \pm 0,84 bA	11,602 \pm 0,65 aA

*Médias ($x \pm$ EP) seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si (Tukey, $P=0,05$).

Tabela 2- Eficiência de controle (%) inseticidas 120 HAT em diferentes populações de *Spodoptera frugiperda* no efeito da “ponte verde”.

Eficiência	Milho (F2)		Aveia (F4)		Milho (F6)		Dieta	
	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas
Espinosade	11,2* ±0,06 B	21,0± 0,09A	91,2 ± 0,05 A	55,2± 0,09 B	90,4± 0,00 A	64,8± 0,00 B	75,2± 0,19 A	64,0± 0,10 A
Etofenproxi	5,6** ±0,05 A	00,0± 0,00A	100,0± 0,07 A	25,6± 0,09 B	88,0± 0,09 A	18,4± 0,10 B	16,0± 0,07 A	28,0± 0,05 B
Lambdacialotrina + Tiametoxam	48,8± 0,19 A	52,2± 0,10A	80,0 ± 0,09 A	20,0± 0,07 B	64,0± 0,09 B	78,4± 0,05 A	68,0± 0,10 A	76,0± 0,09 A
Metomil	81,6 ±0,07 B	93,4± 0,20A	100,0± 0,04 A	100,0± 0,06 A	100,0± 0,05 A	100,0± 0,09 A	93,6± 0,08 A	83,2± 0,08 A

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha entre populações não diferem significativamente entre si (Tukey, $P=0,05$). **Média ± erro padrão

Tabela 3- Eficiência de inseticidas (%) após aplicação do sinérgico DEF 120HAT em populações de *Spodoptera frugiperda*

DEF	Milho (F2)		Aveia (F4)		Milho (F6)		Dieta	
	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas
Espinosade	88,0*± 0,04 A	88,0± 0,10 A	60,0± 0,55 B	82,4± 0,05 A	71,2± 0,04 A	47,2± 0,00 B	67,2± 0,09 A	39,2± 0,10 B
Etofenproxi	20,0**± 0,00 A	30,4± 0,09 A	03,2± 0,08 A	12,0± 0,09 A	16,0± 0,10 A	08,0± 0,10 A	19,2± 0,08 B	39,2± 0,10 A
Lambdacialotrina +tiametoxam	91,2± 0,08 A	99,2± 0,80 A	100,0± 0,04 A	90,4± 0,00 A	60,0± 0,06 B	72,0± 0,08 A	74,4± 0,08 A	66,4± 0,09 A
Metomil	85,6± 0,00 A	93,6± 0,00 A	100,0± 0,06 A	99,2± 0,04 A	76,0± 0,05 A	80,0± 0,00 A	84,0± 0,07 A	92,0± 0,05 A

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha entre populações não diferem significativamente entre si (Tukey, $P=0,05$). **Média ± erro padrão.

Tabela 4-Eficiência de controle (%) inseticidas após aplicação do sinérgico DEM 120 HAT em populações de *Spodoptera frugiperda*.

DEM	Milho (F2)		Aveia (F4)		Milho (F6)		Dieta	
	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas	Cascavel	Pelotas
Espinosade	48,8*± 0,05 B	76,8±0,08 A	99,2± 0,09 A	100,0± 0,06 A	94,4± 0,00 A	99,2± 0,00 A	99,2± 0,10 A	100,0± 0,08 A
Etofenproxi	16,0**± 0,06 A	00,0±0,08 A	58,4± 0,04 A	33,0± 0,06 B	43,2± 0,08 A	45,6± 0,08 A	17,0± 0,08 A	20,0 ± 0,00 A
Lambdacialotrina + Tiametoxam	72,0± 0,09 A	27,2±0,08 B	66,4± 0,00 B	84,2± 0,05 A	87,2± 0,06 A	76,0± 0,08 B	42,0± 0,09 A	17,6± 0,09 B
Metomil	90,4± 0,00 A	80,0± 0,00A	88,8± 0,00 A	70,0± 0,00 B	91,2± 0,05 A	100,0± 0,07 A	92,0± 0,05 A	80,0± 0,08 B

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha entre populações não diferem significativamente entre si ** Média ± erro padrão

Tabela 5-Eficiência de controle (%) de inseticidas 120 HAT na população de *Spodoptera frugiperda* oriunda de Cascavel, no efeito da “ponte verde”, com e sem os sinérgicos DEF e DEM.

Tratamento/hospedeiro	Eficiência de Controle (%)		
	Sinérgicos + EC (%)		
Espinosade	EC	DEF	DEM
Milho (F2)	11,2* ± 0,06 Cc	88,0 ± 0,04 Aa	48,8 ± 0,05 Bb
Aveia (F4)	91,2** ± 0,05Aa	60,0 ± 0,55 Bc	99,2 ± 0,09 Aa
Milho (F6)	90,4 ± 0,00 Aa	71,2 ± 0,04 Bb	94,4 ± 0,00 Aa
Dieta	75,2 ± 0,10 Bb	67,2 ± 0,09 Bcb	99,2 ± 0,10 Aa
Etofenproxi	EC	DEF	DEM
Milho (F2)	05,6 ± 0,05 Bc	20,0 ± 0,00 Aa	16,0 ± 0,06 ABc
Aveia (F4)	100,0 ± 0,07Aa	03,2 ± 0,08 Cb	58,4 ± 0,04 Ba
Milho (F6)	88,0 ± 0,09 Ab	16,0 ± 0,10 Ca	43,2 ± 00,08 Bb
Dieta	16,0 ± 0,07 Ac	19,2 ± 0,08 Aa	17,0 ± 0,08 Ac
Lambdacialotrina + tiametoxan	EC	DEF	DEM
Milho (F2)	48,8 ± 0,10 Cc	91,2 ± 0,08 Aa	72,0 ± 0,09 Bb
Aveia (F4)	80,0 ± 0,09 Ba	100,0 ± 0,04 Aa	66,4 ± 0,00 Cb
Milho (F6)	64,0 ± 0,09 Bb	60,0 ± 0,06 Bb	87,2 ± 0,06 Aa
Dieta	68,0 ± 0,10 Ab	74,4 ± 0,08 Ac	42,0 ± 0,09 Bc
Metomil	EC	DEF	DEM
Milho (F2)	81,6 ± 0,07 Ab	85,60± 0,00 Ab	90,4 ± 0,00Aa
Aveia (F4)	100,0 ± 0,04 Aa	100,0 ± 0,06 Aa	88,8 ± 0,00 Ba
Milho (F6)	100,0 ± 0,05 Aa	76,0 ± 0,05 Bb	91,2 ± 0,05 Aa
Dieta	93,6 ± 0,08 Aa	84,0 ± 0,07 Ab	92,0 ± 0,05 Aa

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e de letras minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si (Tukey, $P=0,05$) ** Média ± erro padrão

Tabela 6- Eficiência de controle (%) de inseticidas na população de *Spodoptera frugiperda* oriunda de Pelotas 120 HAT, no efeito da “ponte verde”, com e sem os sinérgicos DEF e DEM.

Tratamento/hospedeiro	Eficiência de Controle (%)		
	EC	DEF	DEM
Espinosade			
Milho (F2)	21,0* ±0,09 Cb	92,0 ±0,10 Aa	76,8 ±0,08 Bb
Aveia (F4)	55,2** ±0,09 Ca	82,4 ±0,05 Ba	100,0 ±0,06 Aa
Milho (F6)	64,8 ±0,00 Ba	47,2 ±0,00 Cb	99,2 ±0,00Aa
Dieta	64,0 ±0,10 Ba	39,2 ±0,10 Cb	100,0 ±0,08 Aa
Etofenproxi			
Milho (F2)	00,0 ±0,06 Bb	30,4 ±0,09 Aa	00,0 ±0,08 Bd
Aveia (F4)	25,6 ±0,09 Aa	12,0 ±0,09 Bb	33,0 ±0,06 Ab
Milho (F6)	18,4 ±0,10 Ba	08,0 ±0,10 Bb	45,6 ±0,08 Aa
Dieta	28,0 ±0,05 Ba	39,2±0,10 Aa	20,0 ±0,00 Bc
Lambdacialotrina + tiametoxan			
Milho (F2)	52,2 ± 0,10 Bb	99,2 ±0,80 Aa	27,2 ±0,08 Cb
Aveia (F4)	20,0± 0,07 Bc	90,4±0,00 Aa	84,2 ±0,05 Aa
Milho (F6)	78,4 ±0,05Aa	72,0 ±0,08 Ab	76,0 ±0,08 Aa
Dieta	76,0±0,09 Aa	66,4 ±0,09 Ab	17,6 ±0,09 Bb
Metomil			
Milho (F2)	93,4 ± 0,20 Aab	93,6 ±0,00 Aa	80,0 ±0,00 Bb
Aveia (F4)	100,0 ± 0,06 Aa	99,2 ±0,04 Aa	70,0 ±0,00 Bb
Milho (F6)	100,0 ± 0,09 Aa	80,0 ±0,00 Bb	100,0 ±0,07Aa
Dieta	83,2 ±0,08 ABb	92,0 ±0,05 Aa	80,0 ± 0,08 Bb

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e das mesmas letras minúsculas na coluna não diferem significativamente entre si (Tukey, $P=0,05$); ** Média ±erro padrão.

Figuras

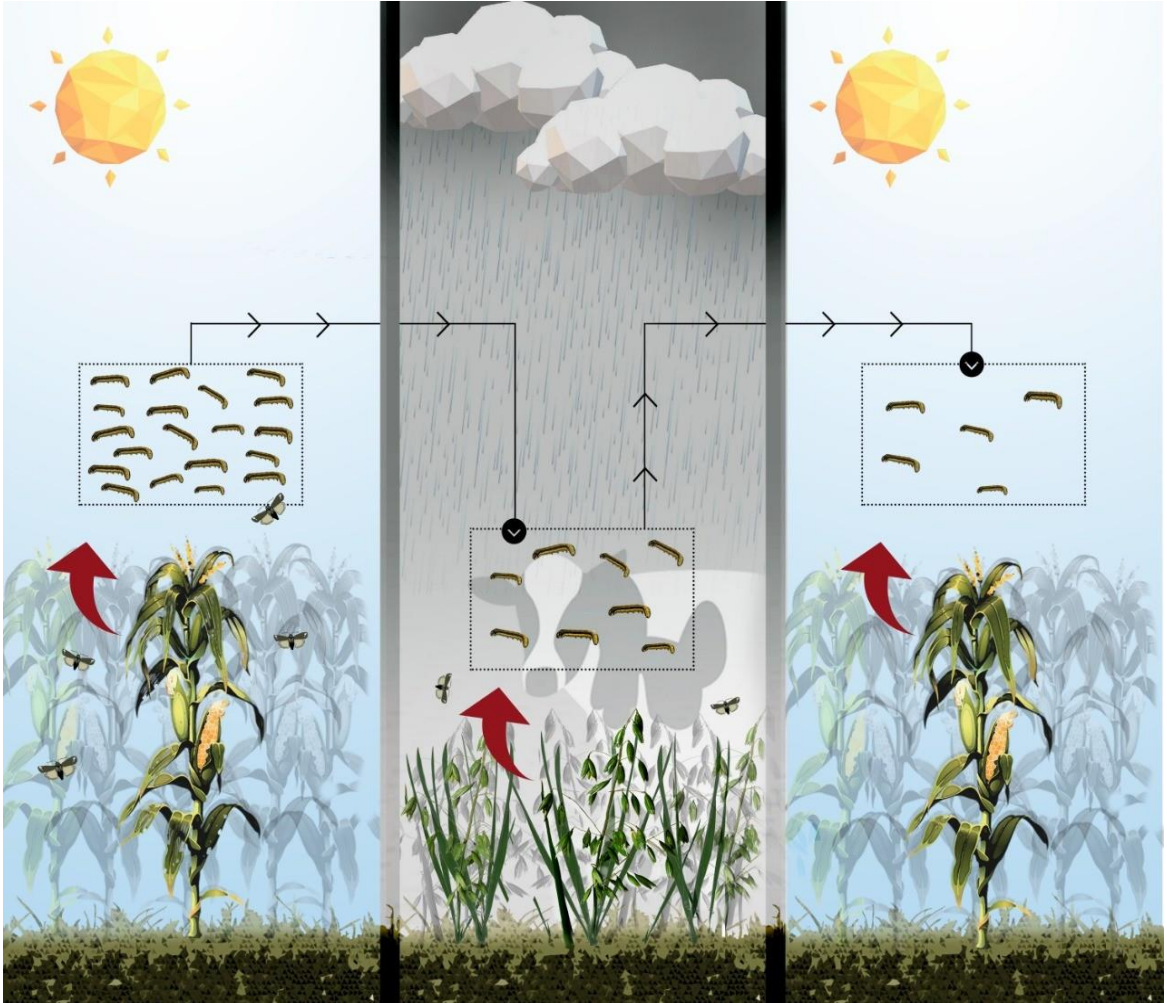


Figura 1- Esquema ilustrativo do efeito de “ponte verde” com milho e aveia preta. Foto por Indyra Carvalho, 2019.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo reforça a importância da regionalização do manejo integrado de pragas de *S. frugiperda*, considerando o histórico de manejo e particularidades específicas de cada região, visto que esses fatores podem transformar a população local e gerar diferentes respostas no manejo cultural e químico de populações oriundas de diferentes agroecossistemas.

Os resultados demonstram que o uso conjunto de sinérgicos como o DEF e DEM na aplicação dos inseticidas poderia ser uma tática a ser explorada no MIP para a população Pelotas, visto que as condições climáticas da região, não permitem que outras culturas possam ser cultivadas no período de inverno, limitando o produtor a plantas forrageiras tais como aveia. Já a utilização da aveia no manejo cultural é uma boa opção para evitar a "ponte verde" em Cascavel.

A informação gerada em relação ao inseticida metomil é de extrema relevância, considerando que, na falta de opções mais adequadas, pode ser explorada a utilização como tática de manejo da resistência de *S. frugiperda*, assim como aconteceu com o fungicida Mancozeb® (ditiocarbamato) que vem sendo utilizado no manejo de resistência a fungicidas contra a ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* S.) (HOLLOMON., 2006; THIND; HOLLOMON., 2018).

Outro aspecto interessante, é em relação aos resultados obtidos quando os insetos foram mantidos em dieta artificial, onde verifica-se que as populações não diferiram quando alimentadas com dieta de Greene et al. (1976), as diferenças intrínsecas da espécie só podem ser observadas quando os insetos são alimentados com alimentos naturais. Considerando que grande parte dos estudos de *S. frugiperda* é realizado com dieta artificial como substrato

alimentar, é possível que muitos aspectos referentes a biologia e fisiologia desta espécie, tenham sido subestimados ou ignorados na literatura.

Neste trabalho é evidenciado, que o manejo integrado de pragas, da forma como foi idealizado, só será possível através da interligação dos conhecimentos já gerados sobre a espécie, já que estudos individuais, desconsideram grande parte de variações associadas a população da praga. No entanto, vale ressaltar a importância desses estudos individuais na compreensão da espécie como um todo e na construção de ferramentas e metodologias que permitam avaliar de forma mais precisa a complexidade dessa praga de importância mundial.

Referências

- EPPO A1 List.** Disponível em: <https://www.eppo.int/FACTIVITIES/plant_quarantine/A1_list>. Acesso em: 5 jan. 2019.
- EPPO Global Database.** Disponível em: <<https://gd.eppo.int/reporting/article-6348>>. Acesso em: 5 jan. 2019.
- FLAGEL, L. et al. 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, n. 1, p.1-11, dez. 2018.
- GOERGEN, G. et al. 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, n. 10, p.1-10, out. 2016.
- GOUIN, A. et al. Two genomes of highly polyphagous lepidopteran pests (*Spodoptera frugiperda*, Noctuidae) with different host-plant ranges. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p.1-12, dez. 2017.
- GRDC| CORPORATION, G. R. AND D. **Green Bridge Factsheet.** green bridge factsheet. Disponível em: <<https://grdc.com.au/resources-and-publications/all-publications/factsheets/2010/01/grdc-fs-greenbridge>>. Acesso em: 20 jan. 2019
- HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance: facing the challenge – a review. **Plant Protection Science**, v. 51, n. No. 4, p. 170–176, jun. 2016.
- KUMELA, T. et al. Farmers’ knowledge, perceptions, and management practices of the new invasive pest, fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Ethiopia and Kenya. **International Journal of Pest Management**, v. 65, n. 1, p. 1–9, jan. 2019.
- LANDAU, E. C. et al. Expansão potencial da produção de milho 2^a safra no Brasil no sistema de sucessão soja-milho considerando o zoneamento de risco climático 2014/15. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, p. 26, 2015.
- OLIVEIRA, M. C. N. DE et al. Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 1, p. 18–31, fev. 2017.
- PASHLEY, D. P.; MARTIN, J. A. Reproductive Incompatibility Between Host Strains of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 80, n. 6, p. 731–733, nov. 1987.

ROSA, A. P. S. A.; BARCELOS, H. T. **Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012.

ROSA, A. P. S. A. et al., ““ponte verde”” para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em Terras Baixas. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 5 p. (**Embrapa Clima Temperado**, Comunicado Técnico, 317).

SARMENTO, R. DE A. et al. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 2, p. 41–48, dez 2002.

THIND, T. S.; HOLLOMON, D. W. Thiocarbamate fungicides: reliable tools in resistance management and future outlook: Thiocarbamate fungicides. **Pest Management Science**, v. 74, n. 7, p. 1547–1551, Jul. 2018.

WILD, S. African countries mobilize to battle invasive caterpillar. **Nature**, v. 543, n. 7643, p. 13–14, fev. 2017.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 1, p. 1–11, set. 2003.