

Resistência de Pragas-Alvo à Toxina Bt Expressa em Milho Transgênico: Modelo para Quantificação de Risco.

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC

MAIA^{1,2}, A. H. N. e DOURADO-NETO², D.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, modelagem, *Ostrinia nubilalis*

1 Embrapa Meio Ambiente, C. P. 69, Jaguariúna, SP. 13.820-000. aline@esalq.usp.br O. nubilalis p.br. Bolsista CNPq.

2 Departamento de Produção Vegetal, ESALQ. Universidade de São Paulo. C. P. 9. Piracicaba, SP. 13.418-970. dourado@esalq.usp.br.

A transferência de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) para diferentes culturas, entre elas batata, fumo, algodão e milho, originou variedades que expressam a toxina Bt e são denominadas variedades transgênicas resistentes a insetos (Andow & Hutchison, 1998). Pragas-alvo evoluem em resposta à seleção natural imposta pelos métodos de controle, sejam inseticidas tradicionais, controle biológico ou culturas transgênicas inseticidas, limitando sua eficiência e viabilidade a longo prazo (Hawthorne, 1998). A evolução de resistência às culturas transgênicas Bt comprometeria não apenas essa tecnologia mas também o uso de formulações contendo esse agente de controle biológico. A principal estratégia recomendada pelo EPA (Environmental Protection Agency) para manejo da resistência é o uso de variedades que expressem a toxina Bt em altas doses combinado com a adoção refúgios, constituídas por áreas ocupadas pela mesma cultura, mas que não expressem a toxina Bt (ILSI-HESI, 1998). Segundo o EPA (FIFRA, 2001), modelos de simulação são importantes ferramentas para avaliar quais estratégias de manejo integrado de pragas são mais eficientes para reduzir o risco de resistência à toxina Bt. Caprio (1998a, 1998b) desenvolveu modelos para simular a evolução da resistência em pragas-alvo à toxina do *Bacillus thuringiensis* (Bt) expressa em culturas transgênicas, para diferentes cenários utilizando a estratégia de refúgio. O primeiro, um modelo estocástico complexo, com grande número de parâmetros, considera padrões espaciais de dispersão da praga-alvo e trata parâmetros relacionados à fertilidade e sobrevivência como variáveis aleatórias; o outro, um modelo determinístico simples, resume partes do primeiro, requer um pequeno número de parâmetros e não considera aspectos espaciais da dispersão. Em situações onde existe pouca informação disponível sobre os parâmetros biológicos da praga, o uso do modelo estocástico é inviável. O modelo determinístico, mesmo com poucos parâmetros, ainda requer informações que dependendo do estágio de conhecimento sobre a praga, podem ser extremamente incertas, como a frequência inicial do alelo de resistência na população da praga-alvo e o grau de dominância do alelo R, que influi na sobrevivência dos diferentes genótipos. O objetivo deste trabalho foi incorporar risco ao modelo determinístico de Caprio (1998), de modo que informações de especialistas sobre a magnitude dos parâmetros possa ser expressa por meio de distribuições de probabilidade, ao invés de valores médios ou medianos. No modelo determinístico de Caprio (Caprio, 1998b) assume-se que a herança da resistência à toxina Bt na praga alvo é monogênica, sendo a população da praga formada por indivíduos suscetíveis (SS), heterozigotos (SR) e resistentes (RR). Esse modelo estima ao final de cada geração da praga, a frequência do alelo R (*FreqR*) que confere resistência à toxina Bt, considerando parâmetros biológicos da praga e diferentes estratégias de manejo da resistência,

Parâmetro	Descrição
<i>AreaDeRefugio</i>	Proporção da área total ocupada pela área de refúgio
<i>FreqInicial</i>	Frequência do alelo de resistência (<i>R</i>) na população inicial da praga-alvo
<i>SFImatRef</i>	Índice de sobrevivência das subpopulações <i>SS</i> , <i>RS</i> e <i>RR</i> da praga alvo, durante a fase imatura, no refúgio
<i>SFImatTranSS</i>	Índice de sobrevivência das subpopulação <i>SS</i> da praga alvo, durante a fase imatura, no refúgio
<i>SFImatTranRR</i>	Índice de sobrevivência da subpopulação <i>RS</i> da praga alvo, durante a fase imatura, no refúgio
<i>SFImatTranRR</i>	Índice de sobrevivência da subpopulação <i>RR</i> da praga alvo, durante a fase imatura, no refúgio
<i>CoefEndogamia</i>	Coefficiente de endogamia da população da praga alvo
<i>DispPre</i>	Índice de dispersão pré-acasalamento
<i>DispPos</i>	Índice de dispersão pós-acasalamento

Neste trabalho, devido à maior disponibilidade de informação sobre os parâmetros do modelo, utilizou-se como praga-alvo a espécie *Ostrinia nubilalis* (Huebner), importante praga da cultura do milho nos Estados Unidos. O modelo pode ser utilizado para outras pragas susceptíveis à toxina Bt, de importância econômica para o milho no Brasil, tais como a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) e a lagarta da espiga (*Helicoverpa zea* Boddie). Para demonstrar a incorporação de incerteza, foi considerado um cenário simplificado, sem área de refúgio. Nesse caso, a informação sobre a dispersão da praga nos períodos de pré e pós-acasalamento não é necessária. Assim, a frequência do alelo *R* a cada geração foi estimada considerando apenas os seguintes parâmetros: frequência inicial do alelo *R* (*FreqInicial*) na população de *O. nubilalis*, índices de sobrevivência na fase imatura dos diferentes genótipos da praga (*SFImatRR*, *SFImatRS* e *SFImatSS*) no milho transgênico e o coeficiente de endogamia da população do inseto (*CoefEndogamia*). Os valores dos parâmetros *SFImatRR*=100% *SFImatRS*=0,2%, *SFImatSS*=0.1% e *CoefEndogamia*=0 foram os mesmos utilizados por Caprio (1998), considerando que a variedade de milho transgênico expressa alta dose da toxina para *O. nubilalis* o que implica em resistência funcional é recessiva. Utilizando o modelo determinístico, foi avaliada a sensibilidade da estimativa da frequência do alelo *R* ao final de cada geração a variações nos valores dos parâmetros *FreqInicial*, *SFImatSS* e *SFImatRS*. *SFImatRR* foi considerado unitário e os demais expressos como fração desse valor. *SFImatRS* é sempre superior ao *SFImatSS*; a razão entre eles depende do grau de dominância funcional do alelo *R*. Na análise de sensibilidade, variou-se o valor de *SFImatSS* e os correspondentes valores de *SFImatRS* foram calculados considerando a razão entre eles igual a 2. Como o valor do *CoefEndogamia* foi considerado nulo nesse cenário, não foi possível compará-lo com outros parâmetros utilizando o critério de variações correspondentes a porcentagens do valor original. Na análise de sensibilidade, para cada um dos parâmetros analisados, a frequência do alelo *R* foi estimada considerando duas magnitudes de variação para os valores dos parâmetros: (a) variações de $\pm 10\%$ do valor do parâmetro e (b) variações de 0,1 e 10 vezes o valor do parâmetro. Os resultados dessa análise para *FreqInicial* e *SFImatSS* indicaram que as estimativas da frequência do alelo *R* têm maior sensibilidade a variações no parâmetro *FreqInicial*. Assim, esse parâmetro foi tratado como variável aleatória, cuja incerteza foi representada por uma distribuição log-normal. Essa distribuição foi escolhida em função de suas propriedades que a fazem adequada para modelar esse tipo de variável: é assimétrica à esquerda, dando mais peso aos valores menores de *FreqInicial*. o que está de acordo com o pressuposto de

primitiva (*FreqInicial*), a moda e a mediana correspondentes valem 10⁻⁴. Foram simulados cinco mil valores de *FreqInicial* utilizando a função RANNOR do SAS System (SAS® Institute 1998). A frequência do alelo *R* ao final de cada geração foi estimada utilizando o modelo de Caprio considerando cada um dos cinco mil valores de *FreqInicial* obtidos por amostragem da distribuição log-normal. Dessa forma, ao final de cada geração, obteve-se um conjunto de cinco mil valores de frequência do alelo *R* (*FreqR*), utilizados para construir distribuições de probabilidade empíricas para *FreqR*. Utilizando essas distribuições empíricas, foi simulado o risco de surgimento de resistência ao final de cada uma de doze gerações consecutivas da praga.

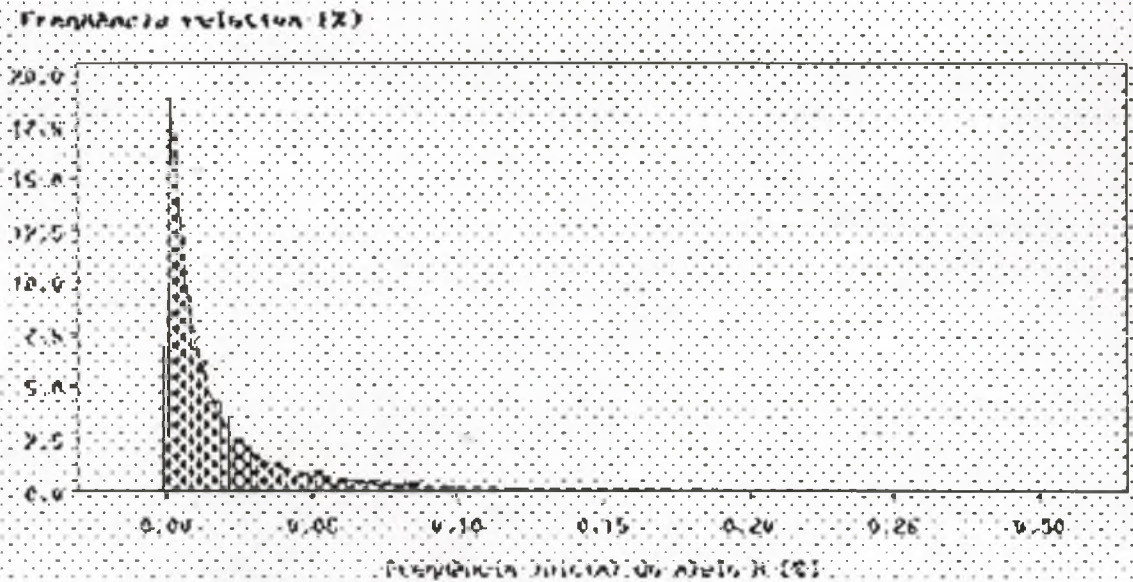


Figura 1. Distribuição log-normal com mediana igual a 0,01% utilizada para caracterizar a incerteza associada à frequência inicial do alelo *R* numa população de *O. nubilalis* (Histograma construído utilizando uma amostra de tamanho N=5000).

O risco foi quantificado pela a probabilidade de a frequência do alelo *R* ao final de cada geração, ser superior a uma determinada frequência crítica (*FreqCritica*) estabelecida pelo usuário.

Foram construídos gráficos mostrando o risco de resistência de *O. nubilalis* à toxina Bt expressa no milho transgênico em função da frequência crítica e do número de gerações. A distribuição de *FreqInicial*, construída com os cinco mil valores simulados cuja distribuição está representada na Figura 1.

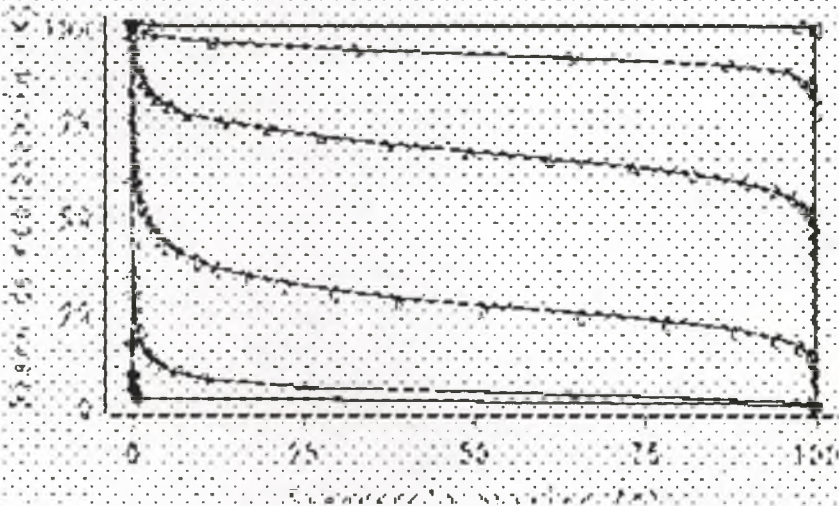


Figura 2. Risco de resistência à toxina Bt expressa em milho transgênico para *O. nubilalis* em função da frequência crítica (*FreqCrit*, %) ao final da 1^a, 3^a, 5^a, 7^a, 9^a.e 12^a gerações da praga-alvo (GER), sem área de refúgio, considerando distribuição lognormal para frequência inicial do alelo R na população da praga com valor mediano de 10⁻⁴.

Os percentis 5, 25, 50, 75 e 95 dessa distribuição foram 0,001; 0,004; 0,010; 0,025 e 0,10%, respectivamente, o que está de acordo com os resultados de Andow & Alstad (1998), que utilizando o método 'F2 screen' estimaram uma probabilidade de 95% de a frequência inicial do alelo R ser inferior a 0,10%. O risco de resistência à toxina Bt ao final da 1^a, 3^a, 5^a, 7^a, 9^a.e 12^a gerações de *O. nubilalis* é apresentado na Figura 2. Uma importante característica dessa abordagem é que a incerteza associada a um determinado parâmetro, representada por uma distribuição de probabilidade, pode ser feita baseada na informação de especialistas. Além disso, a evolução do conhecimento sobre os parâmetros do modelo pode ser incorporada, alterando-se as distribuições que os caracterizam. Isso é particularmente importante na avaliação de risco da resistência onde as lacunas de conhecimento sobre os parâmetros genéticos e bioecológicos de muitas pragas-alvo é imensa. Em situações onde a informação que alimenta o modelo é extremamente incerta, estimativas pontuais sem quantificação da incerteza a elas associada, tais como erro padrão e intervalo de confiança, são de pouca utilidade. A abordagem aqui apresentada permite que as previsões sejam expressas de forma probabilística. Essas previsões são expressas como a probabilidade de *FreqR* exceder uma frequência crítica, ao invés de informar apenas o valor médio de *FreqR*.

Literatura citada

- ANDOW, D.A.; ALSTAD, D.N.. F2 Screen for Rare Resistance Alleles. *Journal of Economic Entomology*, v.91, n.3, p.572-578. 1998.
- ANDOW, D.A.; HUTCHISON, W. D.. Bt-corn resistance management. In: M. Mellon and J. Rissler (eds), Now or never: serious new plans to save a natural pest control. Union of Concerned Scientists: Cambridge, MA, p.18-64, 1998.
- CAPRIO, M. A. Non random mating model. (www.msstate.edu/Entomology/PgJava/ILSI_model.html).1998
- CAPRIO, M. A. Evaluating resistance management for multiple toxins in presence of external refuges. *Journal of Economic Entomology*, v.91, n.5 , p.1021-1031.1998.
- CAPRIO, M.A. Source-sink dynamics between transgenic and non-transgenic habitats and their role in the evolution of resistance. *Journal of Economic Entomology*, v.94, n.3, p.698-705.2001.
- FIFRA — Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act Scientific Advisory Panel. Sets of scientific issues being considered by the Environmental Protection Agency regarding: Bt plant-pesticides risk and benefit assessments. Final report, 18-20 October, 2000 (SAP Report no. 2000-07, March 2001).
- HAWTHORNE, D.. Predicting insect adaption to a resistant crop. *Journal of Economic Entomology*, v.91, n.3, p.565-571. 1998.
- [ILSI-HESI] International Life science Institute — Health and Environmental Science Institute. An evaluation of the insect resistance management in Bt field corn: a science based framework for risk assessment and risk management. Report of an expert panel. ILSI Press, Washington, DC. 1998.
- [NC-205] North Central-205. Supplement to NCR-602. Bt corn & European corn borer:

»

XXIV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 01 a 05 de setembro de 2002 - Florianópolis - SC
