

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE *Spodoptera frugiperda* EM RESPOSTA À DIFERENTES PLANTAS HOSPEDEIRAS

DANIELA VALMORBIDA¹; INDYRA FARIA CARVALHO²; LARISSA LUCKOW
ERDMANN³; LARISSA LONGARAY MACHADO⁴; CAMILA GAUGER NEITZKE⁵;
ANA PAULA SCHNEID AFONSO DA ROSA⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – danielavalmorbida97@gmail.com

²Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas – indyrafaria@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – larissa.erdmann@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – larissa.longaraym@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – camila.neitzke9@gmail.com

⁶Embrapa Clima Temperado – ana.afonso@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

Dentre as principais pragas da cultura do milho (*Zea mays* L.) no Brasil, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-do-cartucho ou lagarta-militar, merece destaque por ser uma praga polífaga, que causa danos em diversas outras plantas hospedeiras. É uma das espécies mais nocivas nas regiões tropicais das Américas, com ampla distribuição geográfica e incidência durante todo o ano, além de elevado potencial biótico em condições climáticas favoráveis (CRUZ, 1995). O alto grau de polifagia da espécie possibilita sua alimentação com mais de 80 espécies vegetais, tornando-se praga em muitas culturas de importância econômica (CABI, 2018). O controle de *S. frugiperda* em milho é realizado quase que exclusivamente com inseticidas químicos (CARVALHO, 1982; GASSEN, 1994).

No Brasil devido ao cultivo sucessivo de plantas hospedeiras da praga durante o período de entressafra do milho e soja nos meses de inverno, a permanência do inseto é favorecida, no fenômeno conhecido como Ponte Verde (AFONSO-ROSA et al., 2014). Em algumas espécies, a alimentação da lagarta por hospedeiros alternativos resulta em biomassa larval inferior quando comparado a seu hospedeiro preferencial, além de maior suscetibilidade a inseticidas (XUE et al., 2010). Acredita-se que essas alterações estejam relacionadas à indução ou inibição de enzimas detoxificantes nos insetos, estimuladas por aleloquímicos vegetais, enquanto os níveis de indução são influenciados por fatores como nutrição, estruturas e distribuições dos aleloquímicos, espécies e fases de desenvolvimento dos insetos, assim como temperatura do ambiente (YANG et al., 2005). O mecanismo usado pelos insetos para detoxificar metabólitos secundários de plantas hospedeiras também pode ser eficaz na detoxificação de inseticidas (YU et al., 1979). Dentre as enzimas de detoxificação de xenobióticos as carboxilesterases (CarEs), as Glutathionas S-transeferases (GSTs) e as P450 estão envolvidas na detoxificação de organofosforados e piretróides na maioria dos insetos. As CarEs são as principais enzimas associadas à hidrólise e sequestro das moléculas (DEVONSHIRE; FIELD, 1991).

Considerando o hábito polífago de *S. frugiperda* o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade das principais enzimas de detoxificação de *S. frugiperda* em resposta a duas plantas hospedeiras cultivadas no Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

As sementes de aveia preta (BRS139 Neblina) foram semeadas em bandejas de plástico (30,0 x 20,0 x 6,00 cm) contendo como substrato terra. Foram mantidas em B.O.D. em condições ideais até a germinação (FLARESSO et al., 2007), quando foram transferidas para casa de vegetação e regadas diariamente, usando-as nos ensaios quando atingiram 10-20 cm de altura. Já as sementes de milho (PRE 22D11) foram semeadas em baldes de 20L contendo terra como substrato, cheios até a borda e mantidos em casa de vegetação, utilizando-os quando as plantas atingiram o estágio V3.

No Núcleo de Bioeficiência da Embrapa Clima Temperado, sob condições de temperatura ($25\pm 1^\circ\text{C}$), umidade ($70\pm 10\%$) e fotofase (14h) controladas, foi estabelecido uma criação de *S. frugiperda* em aveia preta e em milho a partir das posturas oriundas da criação estoque mantidas em dieta artificial de Greene et al. (1976). Após cinco gerações no alimento, lagartas de terceiro instar foram coletadas e utilizadas para análise enzimática.

No Laboratório de Entomologia molecular da UFPEL, 24 lagartas de 3º instar oriundas das populações de aveia preta, milho e dieta artificial foram utilizadas para extração da proteína pelo método de Bradford (1976). Em tubos eppendorf foram colocadas 3 lagartas, macerando-as em tampão fosfato pH 7,0 e gelo. Posteriormente foram levadas para centrifuga refrigerada a 4°C e a 12 mil giros por 15 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetros de microplacas sob 340nm.

A partir do mesmo homogenato as atividades da esterase (EST) foram mensuradas pelo método de Sosa-Gómez (2009) e Baur (2010), utilizando α -naftil acetate como substrato e Fast Blue como corante. Colocou-se a placa no espectrofotômetro a 30°C e a leitura foi feita em intervalos de 15 segundos por 10 minutos. A leitura final consiste na atividade da esterase multiplicada por 100 ($\text{nmoles min}^{-1} \text{mg proteina}^{-1}$).

Para a mensuração da atividade de Glutathione-S-Transferase (GST) utiliza-se o método de Hemingway (1998) utilizando cloro dinitrobenzeno (CDNB) e glutathione reduzida (GSH) para se obter um produto lido, no espectrofotômetro, na faixa de 340nm, a 25°C , a cada 1 minuto, durante 20 minutos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

As médias dos resultados das atividades enzimáticas foram submetidas à análise de variância pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizando o software Genes®.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, o alimento que propiciou a maior quantidade total de proteína nas lagartas foi a dieta artificial de Greene (Figura 1), o que é esperado pelo fato da formulação dessa dieta possuir ingredientes ricos em proteína, como farinha de soja, leite em pó e germen de trigo.

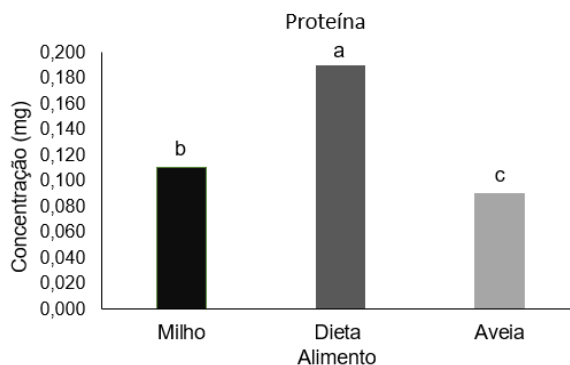


Figura 1. Concentração (mg) de proteína encontrada em *Spodoptera frugiperda* submetida a diferentes alimentos

A importância da quantificação proteica das lagartas se dá pelo fato de que no metabolismo dos insetos a proporção de proteínas e carboidratos solúveis é considerado o fator chave para seu desenvolvimento, fecundidade e sobrevivência (AUGER, 1995; MORGAN, 2010; ZHANG et al., 2011). A utilização de diversas plantas na alimentação das lagartas indica que elas necessitam variada composição nutricional, principalmente em relação a aminoácidos que podem ser utilizados na síntese de proteínas dos insetos, principalmente feromônios e neuropeptídeos. Assim, o conteúdo nutricional abaixo do ideal interfere na sobrevivência, crescimento, desenvolvimento e fecundidade (AWMACK; LEATHER, 2002).

Além disso, diversos estudos comprovam que diferentes plantas hospedeiras podem afetar além da biomassa larval, a suscetibilidade dos insetos a inseticidas (XUE et al., 2010). As duas enzimas de detoxificação de *S. frugiperda* analisadas possuem maior atividade no milho, seguido da dieta artificial e da aveia (Figura 2).

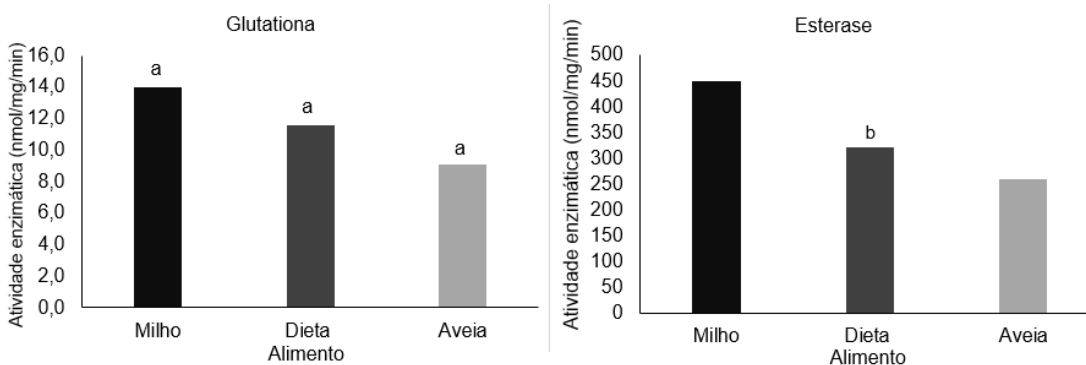


Figura 2. Atividade enzimática de *Spodoptera frugiperda* submetida a diferentes alimentos

Dessa forma pode-se supor que, apesar de menor atividade das enzimas de detoxificação na aveia, *S. frugiperda* tem capacidade de manter sua atividade enzimática, mesmo que menor, na entressafra do milho, em culturas de inverno.

4. CONCLUSÕES

A dieta artificial foi o alimento que resultou em maiores concentrações de proteína nas lagartas. Já na atividade enzimática, observou-se que o milho, principal

planta hospedeira, foi o alimento que mais propiciou essa atividade tanto da esterase quanto da glutatona em *S. frugiperda*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO-ROSA, A. P. S. 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)

AWMACK, C. S.; SIMON, E.; LEATHER, R. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, n.1, p. 817–44, 2002.

CABI. Plant wise Knowledge Bank. Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). <https://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=29810>. Acesso em: 25 de agosto de 2018.

DEVONSHIRE, A. L.; FIELD, L. M. Gene Amplification and Insecticide Resistance. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, n. 1, p. 1–21, 1991.

FLARESSO, J. A; CELOMAR, D. G; ALMEIDA, E. X. Época e densidade de semeadura de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) no Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n.6, p.1969-1974, 2001.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v.69, n.4, p.488-497, 1976.

KARUPPAIAH, V.; SRIVASTAVA, C.; SUBRAMANIAN, S. Effect of host plants on insecticide susceptibility and detoxification enzymes activity in *Spodoptera litura* Fabricius (Noctuidae: Lepidoptera). **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 86, n. 3, p. 715–721, 2016.

XUE, M. et al. Effects of four host plants on susceptibility of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to five insecticides and activities of detoxification esterases. **Pest Management Science**, Oxford, v. 66, n. 12, p. 1273–1279, 2010.

YANG, E. et al. Relative contribution of detoxifying enzymes to pyrethroid resistance in a resistant strain of *Helicoverpa armigera*. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 129, n. 9–10, p. 521–525, 2005.

YU, S. J.; BERRY, R. E.; TERRIERE, L. C. Host plant stimulation of detoxifying enzymes in a phytophagous insect. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 12, n. 3, p. 280–284, 1979.

ZHANG, B. et al. Effect of host plants on development, fecundity and enzyme activity of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agricultural Sciences in China**, v. 10, n. 8, p. 1232–1240, 2011.