

COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA ENTRE OS BIÓTIPOS “MILHO” E “ARROZ” DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

REPRODUCTIVE COMPATIBILITY BETWEEN BIOTYPE “CORN” AND “RICE” OF THE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Gustavo Rossato Busato; Alci Enimar Loeck; Mauro Silveira Garcia; Oderlei Bernardi; Marcelo Zart; Adrise Medeiros Nunes; Luiza Cristiane Fialho Zazycki.

RESUMO

O objetivo neste trabalho foi determinar a compatibilidade reprodutiva entre os biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae). Os insetos foram coletados em lavouras de milho e de arroz irrigado no ecossistema de várzea e identificados pelo DNA genômico. Por ocasião da emergência dos adultos, foram individualizados 10 casais em gaiolas cilíndricas de PVC (20 x 20 cm), revestidas internamente com papel jornal sendo fechadas na parte superior com tecido tipo “tule”. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%. Os acasalamentos realizados foram: cruzamento entre insetos de cada cultura (milho -“M” e arroz - “A”), cruzamentos recíprocos, retrocruzamentos e cruzamento entre as progênes. Os parâmetros avaliados foram: fecundidade, fertilidade, número de espermatozoides por fêmea e porcentagem de fêmeas acasaladas. A fecundidade e o número de espermatozoides por fêmea foram maiores nos cruzamentos “M-M e A-A”, a fertilidade em “M-M, A-A e M-A” e a porcentagem de fêmeas com espermatozoides em “M-M, A-A, A-M e M-A”. Em virtude da baixa fertilidade e porcentagem de fêmeas com espermatozoides e do reduzido número de espermatozoides por fêmea nos retrocruzamentos e cruzamento entre as progênes, conclui-se que, os biótipos “milho” e “arroz” de *S. frugiperda* encontram-se em um processo inicial de especiação e representam raças associadas a plantas hospedeiras.

Palavras-chave: Insecta, lagarta-do-cartucho, especiação.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the reproductive compatibility between the biotypes “corn” and “rice” of *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae). The insects were

collected on corn fields and on irrigated rice in the meadow ecosystem and identified by the DNA genomic. Regarding to the adults emergency, 10 couples were individualized in cylindrical cages of PVC (20 x 20 cm), internally covered with newspaper, and being the superior part closed with woven type “tule”. The adults were fed with aqueous solution of honey on 10%. The accomplished mating was: crossing among insects of each biotype (milho -“M” e arroz - “A”), reciprocal crossings, backcross and crossing among the progeny. The evaluated parameters were: fecundity, fertility, spermatophores number per female and percentage of coupled females. The fecundity and the spermatophores number per female were larger in the crossings “M-M and A-A”, the fertility in “M-M, A-A and M-A” and the percentage of females with spermatophores in “M-M, A-A, A-M e M-A”. Because of the low fertility and percentage of females with spermatophores and the reduced spermatophores number per female in the backcross and crossing among the progeny, it is concluded that, the biotypes “corn” and “rice” of *S. frugiperda* are on an initial process of speciation and they represent races host associated.

Key words: Insecta, fall armyworm, speciation.

(Recebido para Publicação em 04/04/2007, Aprovado em 29/07/2008)

R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.14, n.2, p.273-278, abr-jun, 2008

BUSATO et al. Compatibilidade reprodutiva entre os biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)...

INTRODUÇÃO

As culturas do milho e do arroz irrigado apresentam significativa importância sócio-econômica para o Estado do Rio Grande do Sul (RS). Porém, a ação de insetos impede o melhor aproveitamento do potencial produtivo dos híbridos e cultivares atualmente disponíveis. Neste sentido, destaca-se a lagarta *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em função da grande capacidade desfolhadora (GRÜTZMACHER et al., 2000; MARTINS et al., 2004).

No milho, *S. frugiperda* é conhecida como lagarta-do-cartucho, no qual as lagartas jovens danificam levemente o parênquima foliar, produzindo injúrias de "raspagem". As lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem no cartucho do milho, podendo também danificar a base da planta e atacar a espiga, à semelhança de outras lagartas (GRÜTZMACHER et al., 2000). No arroz irrigado é conhecida como lagarta-da-folha, que se alimentam preferencialmente de plantas de capim-arroz (*Echinochloa* spp.), passando a atacar o arroz após a eliminação destas por herbicidas. As plântulas são cortadas rente ao solo e puxadas para baixo de torrões que servem de abrigo para as lagartas. Em determinados anos atingem níveis populacionais elevados, podendo ocasionar a destruição completa da lavoura (MARTINS et al., 2004).

Nos Estados Unidos foram constatados dois biótipos de *S. frugiperda* associados às culturas do milho e do arroz. O Biótipo "milho" alimenta-se preferencialmente de plantas de milho, enquanto que o biótipo "arroz" alimenta-se preferencialmente de plantas de arroz, grama-seda e outras gramíneas forrageiras (PASHLEY, 1993). O estudo da compatibilidade reprodutiva entre os biótipos indicou a existência de isolamento unidirecional PASHLEY & MARTIN (1987) e a análise da composição do feromônio, evidenciou a existência de uma variação quantitativa nos três principais acetatos LIMA & MCNEIL (1995). Assim, os biótipos representam espécies crípticas associadas às plantas hospedeiras (DRÈS & MALLETT, 2002).

No Estado do RS e em especial no ecossistema de várzea, estudos iniciais evidenciaram a possibilidade de existirem os biótipos "milho" e "arroz" de *S. frugiperda* (BUSATO et al., 2002). Posteriormente, BUSATO et al. (2004) confirmaram a hipótese, tendo sido detectadas diferenças fisiológicas e de estrutura molecular entre os

biótipos associados às plantas hospedeiras.

Para a implementação do manejo integrado de *S. frugiperda* em áreas de várzea do RS, é necessária a correta identificação do inseto alvo. Em virtude dos biótipos ocorrerem simpatricamente no ecossistema de várzea, é importante a análise da compatibilidade reprodutiva visando definir sua situação taxonômica, pois se houver progênes e os insetos completarem o ciclo até a fase adulta, os biótipos representam raças e no caso se houver incompatibilidade reprodutiva, tais biótipos representam espécies crípticas associadas às plantas hospedeiras.

A compatibilidade reprodutiva pode ser observada pela presença de espermatóforos, que são sacos protéicos onde o esperma é acumulado pelos machos, os quais por meio de cópula são depositados no trato genital da fêmea, posteriormente liberam os espermatozoides, que se abrigam na espermateca da fêmea, de onde mais tarde saem para fecundar o óvulo (PASHLEY & MARTIN, 1987).

Dessa forma o objetivo neste trabalho foi determinar a compatibilidade reprodutiva entre os biótipos "milho" e "arroz" de *S. frugiperda*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biologia de Insetos, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, em Capão do Leão - RS.

Os insetos foram coletados no ecossistema de várzea, na localidade de Pelotas (RS), em lavouras de milho e de arroz irrigado e foram identificadas pelo DNA genômico como sendo os biótipos "milho" e "arroz" de *S. frugiperda* (BUSATO et al., 2004). Em laboratório, as lagartas foram criadas sobre folhas do respectivo hospedeiro até a pupação em condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotofase (14 horas). Por ocasião da emergência, foram individualizados 10 casais em gaiolas cilíndricas de PVC (20 x 20 cm), revestidas internamente com papel jornal (substrato de oviposição) e fechadas na parte superior com tecido tipo "tule". Os insetos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%. A metodologia de criação das lagartas foi a descrita por PARRA (2001) em tubos de vidro de fundo chato (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura) sobre a dieta artificial proposta por GREENE et al. (1976).

Inicialmente, foi realizado o cruzamento entre insetos

BUSATO et al. Compatibilidade reprodutiva entre os biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)...

de cada biótipo de *S. frugiperda* e seu respectivo cruzamento recíproco. Na geração seguinte, foram realizados os retrocruzamentos e cruzamentos entre progênes (Tabela 1).

Os parâmetros avaliados foram: fecundidade, fertilidade, número de espermatozóides por fêmea e porcentagem de fêmeas acasaladas.

Tabela 1 - Códigos utilizados nos acasalamentos entre biótipos de *Spodoptera frugiperda*.

Códigos	Acasalamentos	
	Fêmea	Macho
Cruzamentos entre insetos de cada biótipo		
M-M	Milho	Milho
A-A	Arroz	Arroz
Cruzamentos recíprocos		
A-M	Arroz	Milho
M-A	Milho	Arroz
Retrocruzamentos		
M-I	Milho	F ₁ (A♀ x M♂)
A-I	Arroz	F ₁ (A♀ x M♂)
I-M	F ₁ (A♀ x M♂)	Milho
I-A	F ₁ (A♀ x M♂)	Arroz
M-II	Milho	F ₁ (M♀ x A♂)
A-II	Arroz	F ₁ (M♀ x A♂)
II-M	F ₁ (M♀ x A♂)	Milho
II-A	F ₁ (M♀ x A♂)	Arroz
Cruzamentos entre progênes		
I-II	F ₁ (A♀ x M♂)	F ₁ (M♀ x A♂)
II-I	F ₁ (M♀ x A♂)	F ₁ (A♀ x M♂)
I-I	F ₁ (A♀ x M♂)	F ₁ (A♀ x M♂)
II-II	F ₁ (M♀ x A♂)	F ₁ (M♀ x A♂)

Para determinar a fecundidade total, às posturas foram recolhidas do substrato diariamente. O método de contagem utilizado foi descrito por LEUCK & PERKINS (1972), com o auxílio de um microscópio estereoscópio. Para determinação da fertilidade, as posturas em massa do 2^o dia de cada casal foram separadas utilizando o método de GROSS et al. (1981), sendo incubados 30 ovos em tubos de vidro, contendo uma porção de papel filtro umedecido com água destilada. O desenvolvimento embrionário foi acompanhado até o momento da eclosão. As fêmeas mortas foram dissecadas, para verificar a presença de espermatozóides no interior da bursa copulatrix em microscópio estereoscópio.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado. Para testar a homogeneidade da variância e a normalidade dos dados, utilizou-se o teste de Bartlett e Lilliefors, respectivamente, com o uso do programa “Saeg”. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa “Genes” (CRUZ, 2001) e as médias comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

A análise da divergência genética entre os cruzamentos entre biótipos de *S. frugiperda* foi realizada mediante diagnóstico da dispersão gráfica das variáveis canônicas e do agrupamento pelo método de otimização de Tocher, com base na distância generalizada de Mahalanobis

BUSATO et al. Compatibilidade reprodutiva entre os biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)... (CRUZ & REGAZZI, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fecundidade e o número de espermatozoides por fêmea foi maior nos acasalamentos "M-M e A-A". A maior fertilidade ocorreu nos acasalamentos "M-M, A-A e M-A" e a maior porcentagem de fêmeas com presença de

espermatozoides nos acasalamentos "M-M, A-A e M-A e A-M" (Tabela 2). Os valores obtidos encontram-se próximos aos relatados por PASHLEY & MARTIN (1987), WHITFORD et al. (1988) e QUISENBERRY (1991) em estudos realizados com os biótipos "milho" e "arroz" de *S. frugiperda* nos Estados Unidos.

Tabela 2 - Fecundidade (N°), fertilidade (%), número de espermatozoides por fêmea e porcentagem de fêmeas com espermatozoides (\pm EP) nos acasalamentos entre biótipos de *Spodoptera frugiperda*.

Cruzamentos (Fêmea-Macho)	Parâmetros avaliados			
	Fecundidade (N°)	Fertilidade (%)	Espermatozoides (N°)	Fêmeas com espermatozoides (%)
M-M	2022,8 \pm 205,5 a	99,2 \pm 0,5 a	2,0 \pm 0,4 a	100,0 \pm 0,0 a
A-A	2380,8 \pm 97,7 a	99,2 \pm 0,6 a	1,9 \pm 0,3 a	100,0 \pm 0,0 a
A-M	1669,6 \pm 77,5 b	56,9 \pm 8,3 b	1,1 \pm 0,1 b	90,0 \pm 10,0 a
M-A	1758,7 \pm 270,3 b	90,3 \pm 3,9 a	1,2 \pm 0,2 b	90,0 \pm 10,0 a
M-I	470,3 \pm 243,6 c	5,1 \pm 5,1 d	0,2 \pm 0,1 c	10,0 \pm 10,0 c
A-I	579,2 \pm 222,8 c	12,5 \pm 4,5 d	0,2 \pm 0,1 c	20,0 \pm 13,3 c
I-M	348,3 \pm 179,3 c	18,3 \pm 10,4 d	0,1 \pm 0,1 c	20,0 \pm 13,3 c
I-A	317,5 \pm 159,5 c	10,5 \pm 5,7 d	0,2 \pm 0,1 c	20,0 \pm 13,3 c
M-II	1064,6 \pm 250,5 c	35,8 \pm 13,8 c	0,4 \pm 0,1 c	50,0 \pm 16,7 b
A-II	1074,6 \pm 246,3 c	48,7 \pm 7,9 c	0,6 \pm 0,2 c	60,0 \pm 13,3 b
II-M	544,9 \pm 157,0 c	20,2 \pm 9,0 d	0,6 \pm 0,2 c	40,0 \pm 16,3 b
II-A	798,2 \pm 265,3 c	46,5 \pm 16,9 c	0,8 \pm 0,2 c	50,0 \pm 16,7 b
I-II	195,4 \pm 114,2 c	4,5 \pm 4,4 d	0,3 \pm 0,1 c	10,0 \pm 10,0 c
II-I	235,9 \pm 173,9 c	12,3 \pm 7,2 d	0,1 \pm 0,1 c	30,0 \pm 15,3 c
I-I	399,1 \pm 194,7 c	13,1 \pm 7,9 d	0,2 \pm 0,1 c	20,0 \pm 13,3 c
II-II	769,2 \pm 250,5 c	14,2 \pm 9,4 d	0,3 \pm 0,1 c	30,0 \pm 15,3 c

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Houve uma redução gradativa nos parâmetros avaliados a partir dos cruzamentos entre insetos de cada biótipo em relação aos cruzamentos recíprocos, retrocruzamentos e cruzamentos entre progênies (Tabela 2). Porém, é notória a influência do sexo no comportamento de acasalamento dos insetos, especialmente quando a progênie "A-M" foi utilizada como fêmea. A existência de barreiras envolvendo esta progênie também foi observada por PASHLEY & MARTIN (1987), embora os autores relatam a

existência de incompatibilidade reprodutiva, em virtude da não transferência de espermatozóide.

A diversidade genética existente entre os acasalamentos realizados é evidente, pois a análise das duas primeiras variáveis canônicas (fecundidade total e fertilidade) foi suficiente para representar 99,49% da variância genética total, fato que possibilita a representação gráfica da diversidade genética total (Figura 1).

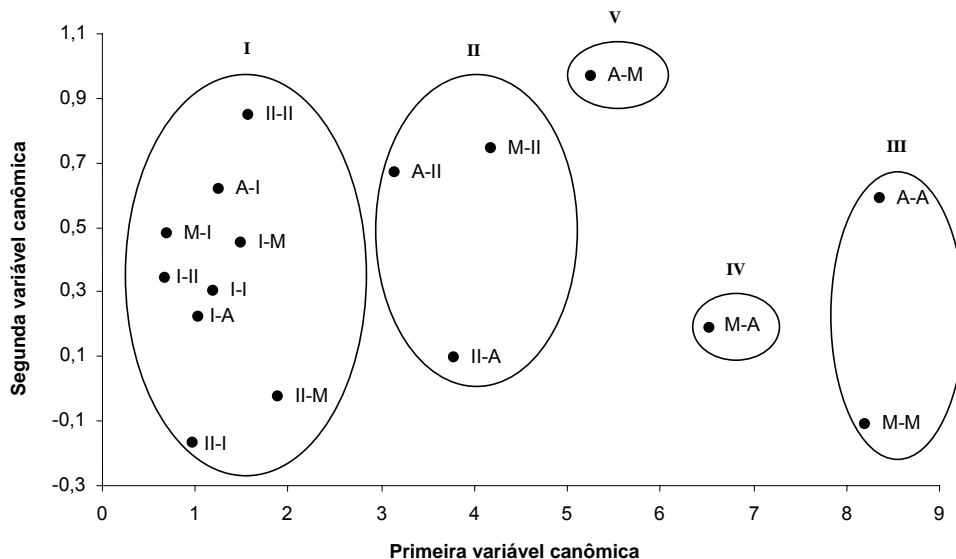


Figura 1 - Dispersão dos escores dos dezesseis acasalamentos entre biótipos de *Spodoptera frugiperda*, em relação às duas primeiras variáveis canônicas.

Formatado: Recuo: A esquerda: 0 cm, Deslocamento: 2.2 cm, Espaçamento entre linhas: 1,5 linha

As estimativas das distâncias generalizadas de Mahalanobis (D^2) indicaram os pares de acasalamentos mais distantes (I-I e A-A) e mais similares geneticamente (I-II e I-A). A análise de agrupamento dividiu os dezesseis acasalamentos em cinco grupos geneticamente dissimilares: Grupo I (II-II, A-I, II-M, M-I, I-I, I-A, I-II, II-I e I-M), Grupo II (A-II, M-II e II-A) e Grupo III (A-A e M-M), Grupo IV (M-A) e Grupo V (A-M).

Diante dos resultados, a compatibilidade entre os biótipos de *S. frugiperda* é restrita, embora ocorra acasalamento em ambas direções. A existência de compatibilidade entre os biótipos “milho” e “arroz” de *S. frugiperda* é relatada por WHITFORD et al. (1988) e QUISENBERRY (1991), enquanto PASHLEY & MARTIN (1987) verificaram a existência de isolamento unidirecional.

Os resultados obtidos podem ser atribuídos à existência de barreiras pré e/ou pós-copulatórias. A reduzida transferência de espermatozoides nos acasalamentos aponta para a existência de barreiras pré-copulatórias. O isolamento temporal entre os biótipos foi relatado por PASHLEY et al. (1992) em que fêmeas jovens do biótipo “milho” emitiram feromônios de acasalamento logo após o início da

escotofase, enquanto que as do biótipo “arroz” no final da escotofase. No entanto, à medida que os insetos envelheceram ocorreu uma considerável sobreposição, quebrando o isolamento temporal (PASHLEY et al. 1992). Outro mecanismo possível complementar o isolamento pré-reprodutivo na ausência de separação temporal é a existência de distintos canais de comunicação entre os biótipos devido a diferenças na proporção dos três principais acetatos no sistema feromonal (LIMA & MCNEIL, 1995). Experimentos de eletroantenografia e túnel-de-vento revelaram que os machos do biótipo “arroz” possuem receptores para o principal componente Z (9) - Tetradecenil Acetato e não responderam a altas doses de feromônio no túnel-de-vento (LIMA & MCNEIL, 1995).

A baixa viabilidade de ovos corrobora com a existência de barreiras pós-copulatórias, tendo como principal mecanismo à inviabilidade do híbrido. Neste sentido, PASHLEY & MARTIN (1987) verificaram que a taxa de fertilidade nos cruzamentos variou de 25,0 a 66,0% enquanto WHITFORD et al. (1988) constataram uma variação de 74,0 a 96,0%.

BUSATO et al. Compatibilidade reprodutiva entre os biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)...

CONCLUSÃO

Em virtude da baixa fertilidade, porcentagem de fêmeas com espermátóforos e do reduzido número de espermátóforos por fêmea nos retrocruzamentos e cruzamentos entre progênies, conclui-se que, os biótipos "milho" e "arroz" de *S. frugiperda* encontram-se em um processo inicial de especiação e representam raças associadas às plantas hospedeiras.

REFERÊNCIAS

- BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; GARCIA, M.S. et al. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 31, n. 4, p. 525-529, 2002.
- BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; OLIVEIRA, A.C. de et al. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* associadas ao milho e arroz no Estado do Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 33, n. 6, p. 709-716, 2004.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 1997. 390p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2001. 648p.
- DRÈS, M.; MALLET, J. Host races in plant-feeding insects and their importance sympatric speciation. **Philosophical Transactions: Biological Sciences**, London, v. 357, n. 1420, p. 471-492, 2002.
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 69, n. 4, p. 488-497, 1976.
- GROSS, H.R.; JOHNSON, R.J.; HARREL, E.A. et al. Method of separating fall armyworm eggs from masses. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 74, n. 4, p. 122-123, 1981.
- GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F.S.; CUNHA, U.S. Insetos-pragas das culturas do milho e sorgo no agroecossistema de várzea. In: PARFITT, J.M.B (Ed.). **Produção de milho e sorgo em várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000, cap. 4, p.87-102.
- LEUCK, D.B.; PERKINS, W.D. A method of estimating fall armyworm progeny reduction when evaluating control achieved host-plant resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 65, n. 4, p. 482-483, 1972.
- LIMA, E.R.; MCNEIL, J.N. Mecanismos de isolamento reprodutivo em *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., Caxambu, 1995. **Resumos...** Caxambu: SEB, 1995. p.164.
- MARTINS, J.F.S.; GRÜTZMACHER, A.D.; CUNHA, U.S. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. A.M. (Eds.), **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa informação tecnológica, 2004, cap.19, p.635-676.
- PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 3.Ed. Piracicaba: FEALQ, 2001. 134p.
- PASHLEY, D.P. Causes of host-associated variation in insect herbivores: an example from fall armyworm. In: KIM, K.C; MCPHERON, B.A. (Ed.) **Evolution of insect pests: patterns of variation**. New York: John Wiley & Sons, 1993. cap. 5, p. 351-359.
- PASHLEY, D.P.; MARTIN, J.A. Reproductive incompatibility between host strains of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 80, n. 6, p. 731-733, 1987.
- PASHLEY, D.P.; HAMMOND, A.M.; HARDY, T.N. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomologica Society of America**, Lanham, v. 85, n. 4, p. 400-405, 1992.
- QUISENBERRY, T.J. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strain reproductive compatibility. **Florida Entomologist**, Winter Haven, v. 74, n. 2, p. 194-199, 1991.
- WHITFORD, F.; QUISENBERRY, S.S.; RILEY, T.J. et al. Oviposition preference, mating compatibility, and development of two fall armyworm strains. **Florida Entomologist**, Winter Haven, v. 71, n. 3, p. 234-243, 1988.