

Fatores que afetam a evolução da resistência

Renato Horikoshi
Manejo de Resistência a Insetos
Regulamentação - Bayer



Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas
Brasil

☐ **FATORES GENÉTICOS**



☐ **FATORES BIOECOLÓGICOS**



☐ **FATORES OPERACIONAIS**



FATORES GENÉTICOS

- **Frequência inicial do alelo da resistência**
- **Padrão de herança da resistência**
- **Migração Fluxo gênico**
- **Valor adaptativo dos heterozigotos e homozigotos resistentes (“fitness”)**

Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in field populations of pink bollworm

Bruce E. Tabashnik^{*†}, Amanda L. Patin^{*}, Timothy J. Dennehy^{*}, Yong-Biao Liu^{*}, Yves Carrière^{*}, Maria A. Sims^{*}, and Larry Antilla^{*}

^{*}Department of Entomology, University of Arizona, Tucson, AZ 85721; and [†]Arizona Cotton Research and Protection Council, Phoenix, AZ 85040

Communicated by William S. Bowers, University of Arizona, Tucson, AZ, September 19, 2000 (received for review April 14, 2000)

Strategies for delaying pest resistance to genetically modified crops that produce *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins are based primarily on theoretical models. One key assumption of such models is that genes conferring resistance are rare. Previous estimates for lepidopteran pests targeted by Bt crops seem to meet this assumption. We report here that the estimated frequency of a recessive allele conferring resistance to Bt toxin Cry1Ac was 0.16 (95% confidence interval = 0.05–0.26) in strains of pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) derived from 10 Arizona cotton fields during 1997. Unexpectedly, the estimated resistance allele frequency did not increase from 1997 to 1999 and Bt cotton remained extremely effective against pink bollworm. These results demonstrate that the assumptions and predictions of resistance management models must be reexamined.

The common soil bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) produces crystals containing proteins that are toxic to certain insects but are harmless to most other organisms, including

and from each of 13 cotton fields from August to December in 1999 (Fig. 1) (9, 10). With three exceptions, pink bollworm larvae were too scarce in Bt cotton to obtain sufficient numbers to initiate strains, and thus bolls were collected from non-Bt cotton fields adjacent to Bt cotton fields to initiate field-derived strains. At Eloy in 1997, we collected bolls from a Bt cotton field (Eloy Bt) and an adjacent non-Bt cotton field (Eloy non-Bt). At two locations (Coolidge and Mohave Valley) in 1999, we collected bolls from a Bt cotton field and an adjacent non-Bt cotton field. For each non-Bt cotton site analyzed, we obtained at least 100 individuals from bolls to initiate a field-derived strain. For the three Bt cotton sites analyzed, the numbers of individuals used to initiate field-derived strains were 41 for Eloy Bt, 9 for Coolidge Bt, and 24 for Mohave Valley Bt. Unless specified otherwise, larvae were reared on wheat germ diet without Cry1Ac (9, 10).

To determine the susceptibility of each field-derived strain, neonates of one or more generations from the unselected F₁

Estimating the frequency of Cry1F resistance in field populations of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae)

Blair D Siegfried,^{a*} Murugesan Rangasamy,^a Haichuan Wang,^a Terence Spencer,^a Chirakkal V Haridas,^b Brigitte Tenhumberg,^b Douglas V Sumerford^c and Nicholas P Storer^d

Abstract

BACKGROUND: Transgenic corn hybrids that express toxins from *Bacillus thuringiensis* (Bt) have suppressed European corn borer populations and reduced the pest status of this insect throughout much of the US corn belt. A major assumption of the high-dose/refuge strategy proposed for insect resistance management and Bt corn is that the frequency of resistance alleles is low so that resistant pests surviving exposure to Bt corn will be rare.

RESULTS: The frequency of resistance to the Cry1F Bt toxin was estimated using two different screening tools and compared with annual susceptibility monitoring based on diagnostic bioassays and LC₅₀ and EC₅₀ determinations. An F₁ screening approach where field-collected individuals were mated to a resistant laboratory strain and progeny were assayed to determine genotype revealed that resistance alleles could be recovered even during the first year of commercially available Cry1F corn (2003). Estimates of frequency from 2003–2005 and 2006–2008 indicated that, although allele frequency was higher than theoretical assumptions (0.0286 and 0.0253 respectively), there was no indication that the frequency was increasing. Similar estimates in 2008 and 2009 using an F₂ screening approach confirmed the presence of non-rare resistance alleles (frequency $\approx$ 0.0093 and 0.0142 for 2008 and 2009, respectively). The results of both screening methods were in general agreement with the observed mortality in diagnostic bioassays and LC₅₀ and EC₅₀ determinations.

Padrão de herança da resistência

Assumindo-se que a resistência é monogênica e comandada pelos alelos S e R, os possíveis genótipos são:

INSETO
SUSCETÍVEL



Maioria dos insetos (SS):
quando expostos à proteína
morrem

INSETO
RESISTENTE



Raros insetos (RR):
quando expostos à proteína
sobrevivem



×



=



Homozigoto suscetível (SS)



×



=



Homozigoto resistente (RR)



×



=

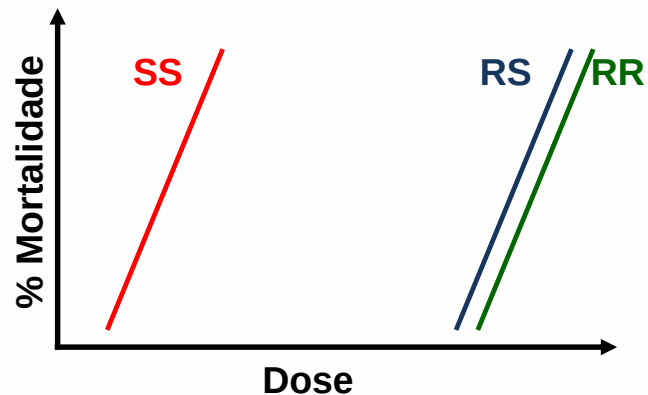


Heterozigoto (RS)

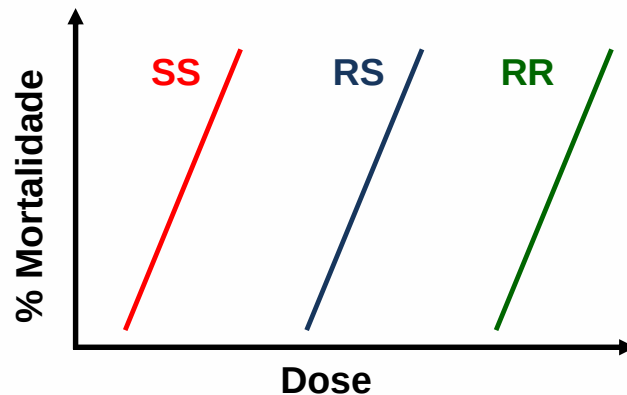
Padrão de herança da resistência



Resistência recessiva
(fenótipo suscetível no heterozigoto)



Resistência dominante
(fenótipo resistente no heterozigoto)



Resistência intermediária
(codominância)

FATORES GENÉTICOS

Assumindo que:

- Resistência é monogênica
- 2 alelos (R - Resistência e S - Suscetibilidade)
- População em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$)

Se a frequência gênica for:

$$f(R) = p = 0,01 \quad (10^{-2})$$

$$f(S) = q = 0,99$$

Então a frequência genotípica será:

$$f(RR) = p^2 = 0,0001$$

$$f(RS) = 2pq = 0,0198$$

$$f(SS) = q^2 = 0,9801$$

Assumindo um tamanho populacional de 10.000 indivíduos teremos:

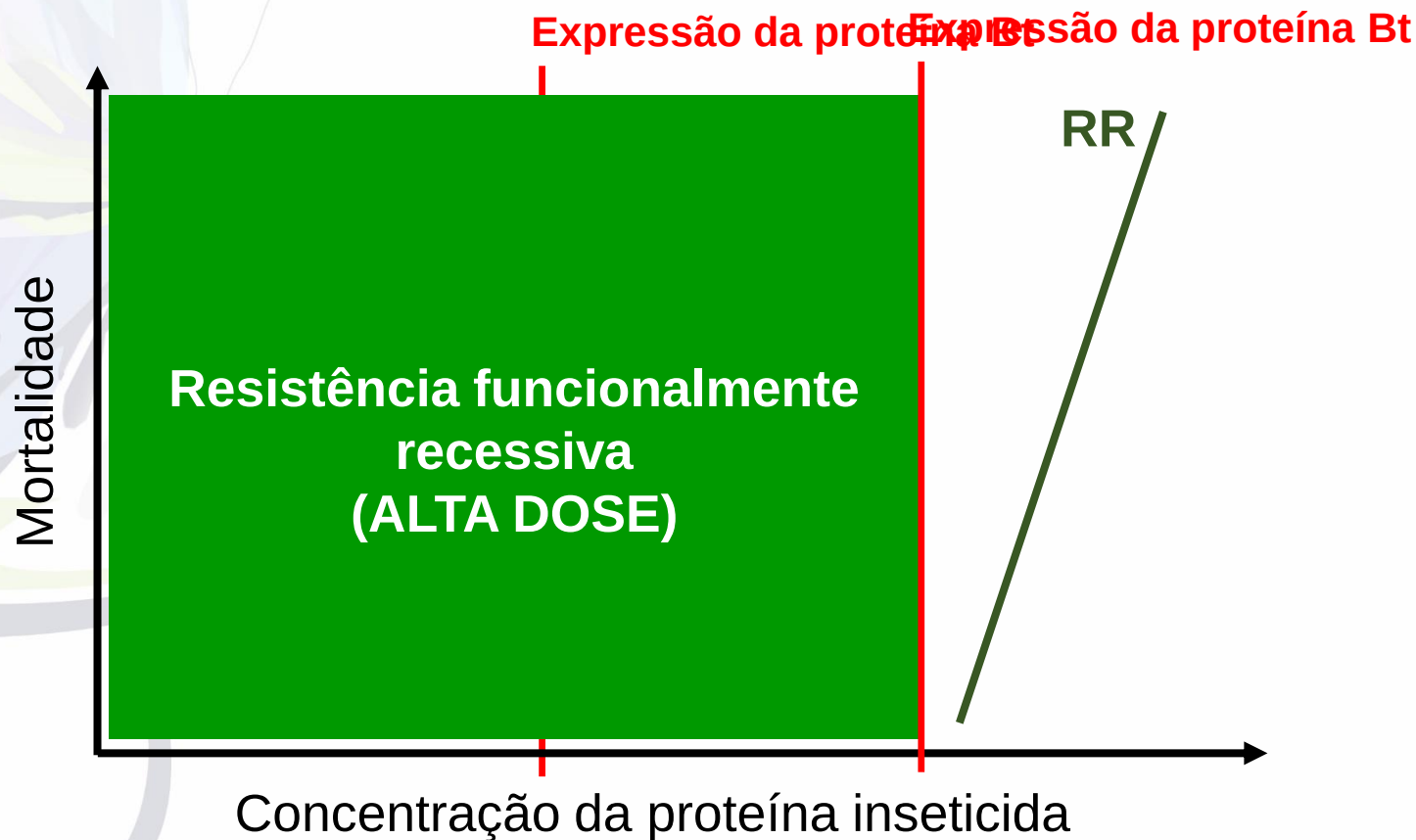
$$f(RR) = 0,0001 \times 10.000 = 1$$

$$f(RS) = 0,0198 \times 10.000 = \mathbf{198}$$

$$f(SS) = 0,9801 \times 10.000 = 9.801$$

A mortalidade dos heterozigotos (RS) é a chave para o manejo da resistência.

Efeito da "dose" na evolução da resistência



ALTA DOSE → garantir a mortalidade de heterozigotos



FATORES GENÉTICOS

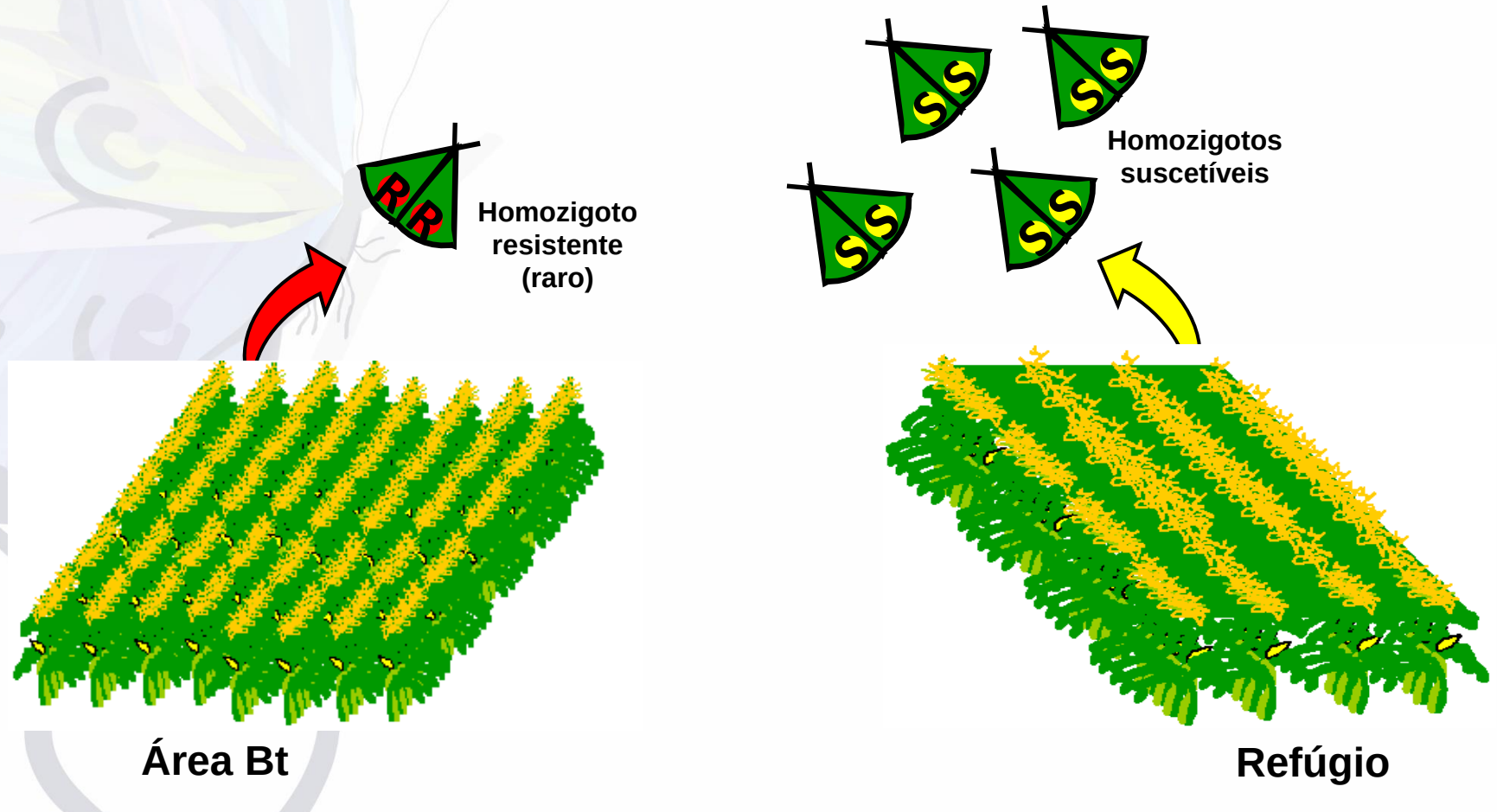
- Frequência inicial do alelo da resistência
- Padrão de herança da resistência
- **Migração Fluxo gênico**
- **Valor adaptativo dos heterozigotos e homozigotos resistentes “fitness”**

FATORES GENÉTICOS

- Migração de indivíduos suscetíveis de áreas não tratadas para as tratadas contribui na “diluição” do alelo de resistência
- Desvantagem adaptativa dos indivíduos resistentes em relação aos indivíduos suscetíveis



FATORES GENÉTICOS



migração de suscetíveis do refúgio para área Bt
Evitar ou retardar a evolução da resistência

FATORES BIOECOLÓGICOS

- **Taxa de reprodução e tempo de uma geração**
- **Tipo de reprodução**
- **Mobilidade e dispersão**
- **Hábito alimentar**
- **Fatores bióticos de mortalidade natural**

FATORES BIOECOLÓGICOS

- ✓ **Taxa de reprodução e tempo de duração da geração**
 - Elevada capacidade reprodutiva;
 - Gerações sucessivas e sobrepostas;
 - Elevada densidade populacional no agroecossistema;
 - Severas infestações em qualquer época de cultivo;

FATORES BIOECOLÓGICOS



S. frugiperda



C. includens



H. armigera



Mosca branca

Taxa de reprodução

Duração entre gerações



Elevada probabilidade de evolução
da resistência em curto prazo

FATORES BIOECOLÓGICOS

✓ Hábito alimentar



H. armigera



S. frugiperda



A. argillacea

✓ Espécies polífagas

- Vários hospedeiros
- Milho, soja, algodão, feijão, entre outros.
- Ex.: *S. frugiperda* e *H. armigera*

✓ Espécie monófaga

- Um ou poucos hospedeiros
- Ex.: *A. argillacea* em algodão

A evolução de resistência é mais rápida para espécies monófagas

FATORES BIOECOLÓGICOS

✓ Fatores bióticos de mortalidade da praga



Diminuir população de resistentes e
retardar a evolução da resistência

**Teoricamente, os inimigos naturais não são capazes de
discriminar indivíduos suscetíveis de resistentes**

FATORES OPERACIONAIS

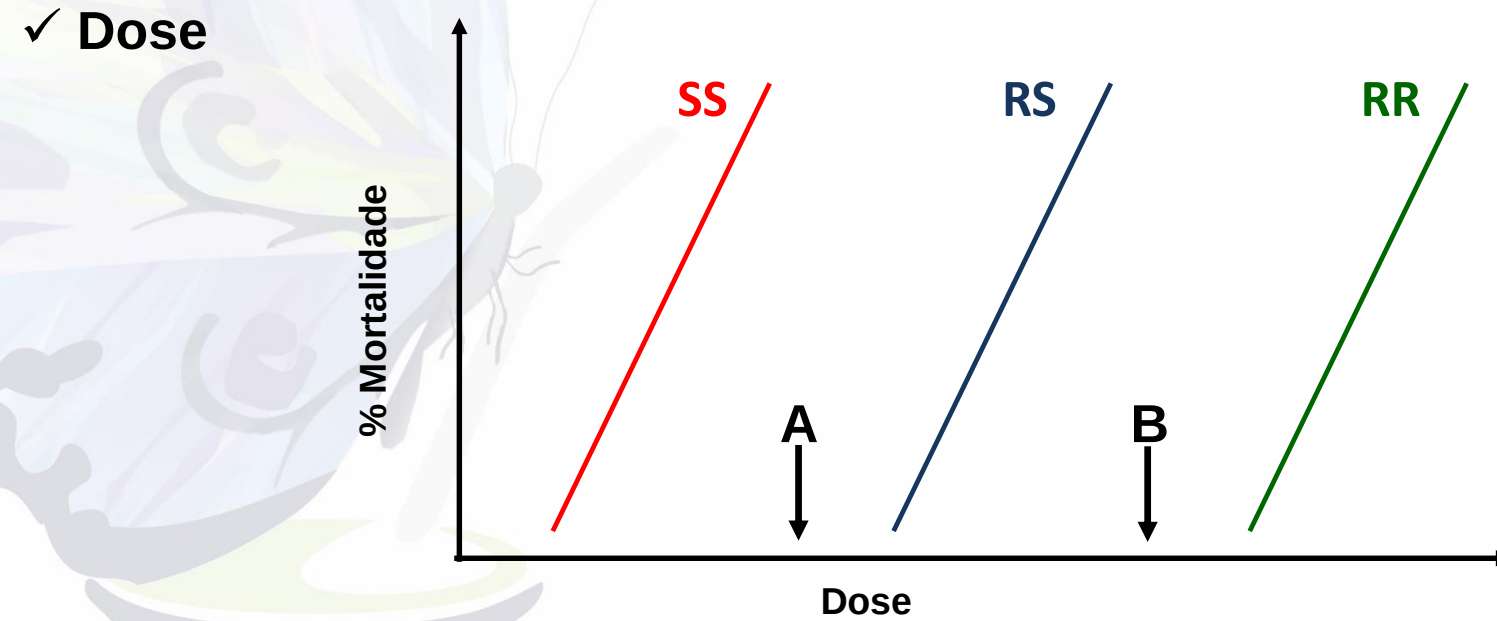
Características do produto

- dose
- persistência,
- formulação
- seletividade a inimigos naturais

Características da aplicação

- nível de ação para controle da praga,
- estágio de desenvolvimento da praga,
- modo de aplicação
- calibração dos equipamentos

FATORES OPERACIONAIS



- ✓ Reduzir a dose de B para A pode favorecer a evolução da resistência, pois permite a sobrevivência dos indivíduos de genótipo heterozigoto.
- ✓ O aumento de dose de A para B pode até favorecer o manejo da resistência, matando os indivíduos heterozigotos, mas tem limitações práticas.

USAR DOSE RECOMENDADA PELO FABRICANTE

FATORES OPERACIONAIS

- ✓ **Persistência:** em manejo de resistência está **diretamente relacionada ao tempo de uma geração da praga.**

Espécie A

Período ovo-adulto: 10 dias

Espécie B

Período ovo-adulto: 21 dias

Produto A : ativo por **10** dias

Produto B: ativo por **14** dias

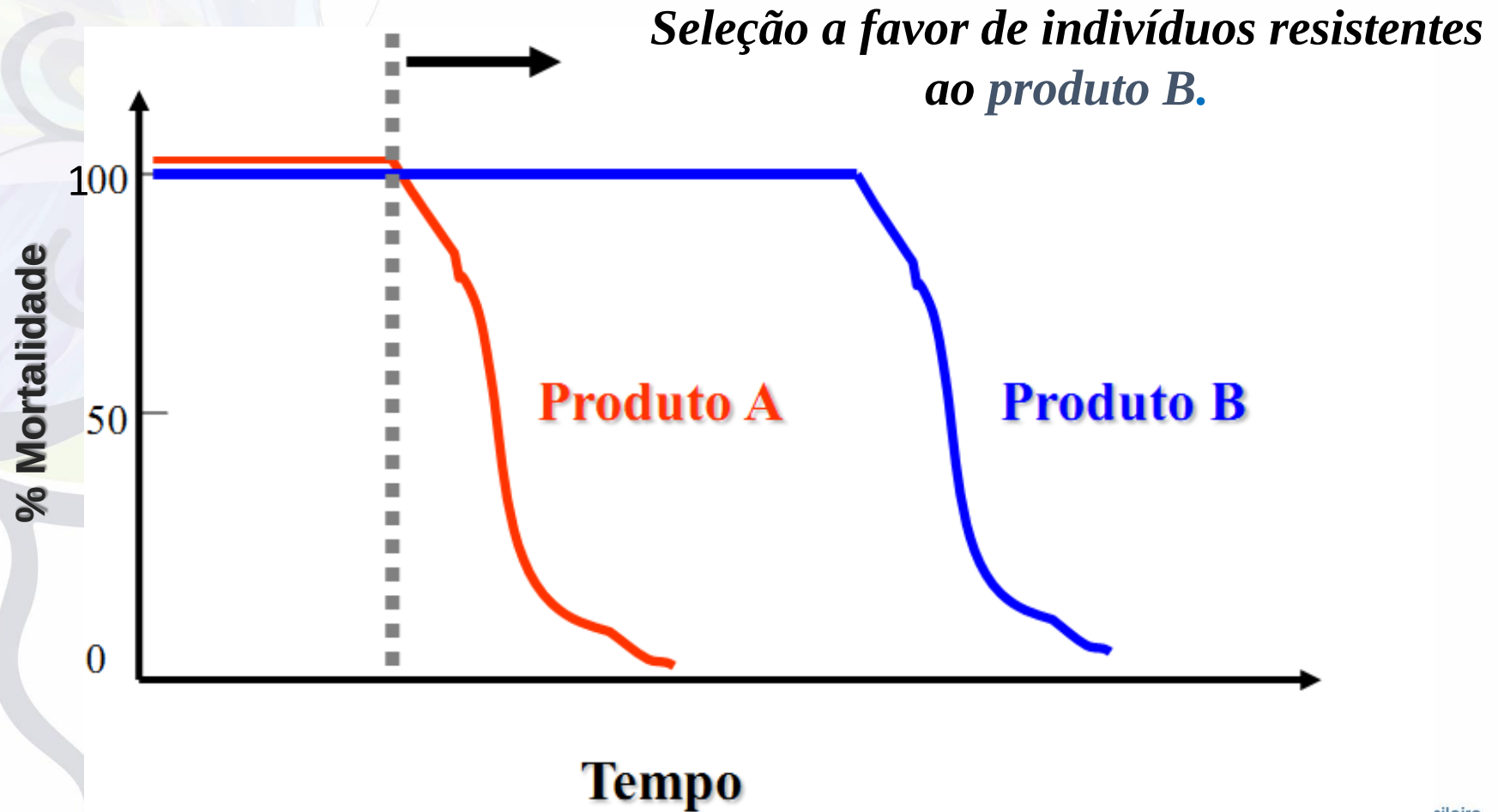
Os dois produtos têm baixa persistência para a espécie B, enquanto que, para a espécie A ambos apresentam alta persistência

Persistência alta: produto age por mais de uma geração da praga

Persistência baixa: produto age por menos de uma geração da praga



FATORES OPERACIONAIS



FATORES OPERACIONAIS

Características do produto

- dose
- persistência,
- formulação
 - Diretamente relacionada a liberação do ativo
 - Microencapsulados e granulados liberação mais lenta
- seletividade a inimigos naturais
 - inseticidas seletivos

FATORES OPERACIONAIS

✓ **Aspectos relacionadas à aplicação do inseticida**

- **Nível de ação para controle da praga**
 - Aplicação quando atingir o nível de ação
- **Estágio de desenvolvimento da praga**
 - Aplicação no estágio mais suscetível da praga
- **Momento da aplicação**
 - Condições climáticas adequadas
 - Formulação e dosagem correta
 - Pontas de pulverização com melhor cobertura
- **Calibração dos equipamentos**
 - Velocidade, pressão e volume de calda



02 a 06 de setembro de 2018
Expogramado, Gramado/RS

Renato J. Horikoshi
renato.horikoshi@bayer.com

IRAC

Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas
Brasil