

FERNANDO VELLOSO LOPES

**GERENCIAMENTO DE RESISTÊNCIA DE INSETOS EM
PLANTAÇÕES TRANSGÊNICAS**

USP- IME - FMVZ
SÃO PAULO
2008

FERNANDO VELLOSO LOPES

**GERENCIAMENTO DE RESISTÊNCIA DE INSETOS EM
PLANTAÇÕES TRANSGÊNICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento
de Matemática Aplicada do Instituto de
Matemática e Estatística da Universidade
de São Paulo para a obtenção do grau de
Bacharel em Matemática Aplicada e
Computacional Com ênfase em Saúde Animal
Sob orientação do Prof^o Pedro Aladar Tonelli

USP- IME - FMVZ
SÃO PAULO
2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

São Paulo, 20 de fevereiro de 2009

Pedro Aladar Tonelli

Sônia Regina Leite Sales

Jóse Soares

Dedico este trabalho a todos que me apoiaram durante minha vida;
dedico também a todos aqueles que não tiveram esta mesma oportunidade.

Gostaria de agradecer a todos que me ajudaram nessa jornada árdua até aqui; foram muitos aqueles que caminharam comigo e muitas vezes tudo o que tinha diante das dificuldades enfrentadas era o inegável e valoroso apoio dessas pessoas. Pessoal, profissional e academicamente o caminho foi duro, mas extremamente gratificante e de maneira nenhuma tenho ressentimentos.

Meus caros professores e colegas, assim como outros tantos membros de minha família e amigos; devo meus sinceros agradecimentos não só a esta fase de minha vida que se conclui, mas a tudo aquilo que me trouxe até este ponto, e sem dúvida o amor de vocês foi o principal.

Obrigado.

“Os loucos abrem caminhos que mais tarde percorrem os sábios.”

Carlo Dossi

“Quem vive sem loucuras não é tão sábio quanto parece.”

Duque de La Rochefoucauld (François Poitou)

“Não é a dúvida, mas a certeza, que torna louco.”

Friedrich Nietzsche

“Como posso querer que meus amigos entendam as coisas loucas que passam pela minha cabeça, se eu mesmo, não entendo?”

Salvador Dalí

RESUMO

Este trabalho procura aprofundar-se na dinâmica entre inseto planta nos casos de sementes transgênicas focado unicamente no aspecto do desenvolvimento de resistência na população de insetos na região de plantio desta variedade de semente. Com o surgimento das sementes transgênicas no mercado brasileiro, se faz necessário um melhor entendimento de seus impactos no meio ambiente; neste trabalho é abordado apenas um desses aspectos, o desenvolvimento de resistência a toxina da semente na população de insetos. O método usado para esta análise foi o método das áreas de refúgio; que consiste na ocupação de parte da área a ser cultivada por sementes tradicionais (não-transgênicas) em conjunto com as sementes transgênicas, visando assim preservar a diversidade genética da população de insetos local e retardar o desenvolvimento da resistência em questão. Após análises do modelo empregado em países do exterior e simulações com dados teóricos pôde-se obter informações importantes sobre a dinâmica de desenvolvimento dessa resistência, no entanto diante dos poucos estudos sobre o tema, os resultados aqui obtidos padecem de dados de campo para análises mais profundas e servem apenas de exercício para possíveis conseqüências da implementação desse método de controle.

SUMÁRIO

MOTIVAÇÃO.....	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. HISTÓRICO SOBRE <u>BACILUS THURINGIENSIS</u>	5
3. MÉTODO DE GERENCIAMENTO.....	6
4. ABORDAGENS.....	7
5. MODELO.....	8
6.DECOMPOSIÇÃO E ANÁLISE.....	14
7. DADOS E SIMULAÇÃO.....	16
8.CONCLUSÃO.....	17
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	21
BIBLIOGRAFIA.....	22
ANEXO A.....	23

MOTIVAÇÃO

A elaboração deste trabalho e escolha deste tema em particular teve em parte, grande influência da questão ambiental que tem atraído a atenção nos últimos tempos.

Diante da temática da sustentabilidade muito comentada e defendida ultimamente pareceu-me natural tratar de um tema que promovesse tanto um ganho econômico como ecológico, ainda mais diante da escassez de estudos e por se tratar a própria cultura de sementes geneticamente modificadas uma inovação que cresce rapidamente no mercado agrícola e que trás consigo grandes promessas e com elas grandes incertezas e possibilidades.

1.INTRODUÇÃO

Este trabalho versa sobre o controle ou gerenciamento de resistência em pestes agrícolas, mais especificamente o seu controle em plantações com sementes transgênicas do tipo *Bt*.

Primeiramente, *Bt* deriva de *Bacillus thuringiensis*, que se trata de um bacilo¹ encontrado na natureza, mais especificamente no solo e que é letal a uma gama variada de insetos indesejados e de grande impacto na produtividade agrícola. As sementes *Bt* nada mais são que sementes manipuladas em laboratório para que incorporem em seu código genético elementos que fazem com que as mesmas produzam naturalmente a toxina nociva às pragas de plantação mais comuns. Os tipos mais comuns atualmente de sementes *Bt* utilizadas em larga escala são as de milho, soja e algodão (ILSI 1999).

A vantagem desta semente em relação às comuns está no fato de ter uma produção por área superior, um grão de maior qualidade, um manejo relativamente mais simplificado e barato; dada a maior exposição da peste ao agente e, um uso inferior de pesticidas sintéticos (ILSI 1999 apud Rice and Pilcher 1998); beneficiando assim todas as partes que fazem parte da cadeia, desde a plantação, manejo, cultivo/manutenção, funcionários, consumidores e por fim o meio ambiente, benefícios mais detalhados são encontrados em ILSI 1999.

A plantação em larga escala de sementes *Bt* começou em 1996 e cresceu rapidamente alcançando mais de 14 milhões de hectares cultivados ao redor do mundo em 2002 (Bruce 2003 et al. apud James 2002). No período acumulado entre 1996 e 2002 temos 62 milhões de hectares produzidos (Bruce 2003 et al. apud James 2001, 2002).

Mas apesar de tantas promessas e da crescente utilização, poucos estudos foram desenvolvidos até agora sobre as verdadeiras vantagens e desvantagens da utilização deste tipo de semente e muitos deles se mostram apenas um exercício científico, dada a falta de dados de campo (Bruce 2003 et al. apud Liu and Tabashnik 1997, Shelton et al. 2000, Tang et al. 2001). Este trabalho apenas abordará um aspecto de todas as questões envolvidas: O desenvolvimento de resistência populacional nos insetos alvos.

Com o uso de sementes *Bt* o uso de inseticidas sintéticos será inferior; no entanto, através de dados experimentais, descobriu-se que existem indivíduos dentro dessas populações de insetos que apresentam uma resistência natural a toxina e que o

¹ **Bacilo** é a designação comum às bactérias do gênero *Bacillus*, que possuem forma de bastonetes

uso prolongado e massivo desse tipo de toxina é um dos maiores atuantes no processo de seleção de indivíduos resistentes já visto (Bruce 2003 et all. apud Tabashnik 1994, Gould 1998, Shelton et al. 2002, Ferré and Van Rie 2002) e isso poderia levar a uma presença muito superior de indivíduos resistentes o que por fim resultaria em uma perda da vantagem oferecida pela semente *Bt*, entretanto até o momento não foram encontrados sinais dessa tendência mesmo em grandes áreas exclusivamente plantadas com *Bt* (Bruce 2003 et all. apud Georghiou and Lagunes-Tejeda 1991, Tabashnik 1994, Shelton et al. 2002, Ferré and Van Rie 2002, Heckel et al. 2003).

Dentro da questão do gerenciamento de resistência na população este trabalho abordará apenas uma das diversas metodologias em estudo atualmente: o modelo de áreas de refugio. O modelo de áreas de refugio tem como idéia principal o plantio de sementes não transgênicas para tentar, através de manutenção da diversidade genética, manter o número de indivíduos resistentes dentro de um limiar² onde a relação custo-benefício faça sentido para o método de controle escolhido.

² Valor máximo permitido a um determinado parâmetro (limite).

2. HISTÓRICO SOBRE BACILUS THURINGIENSIS

O *Bacillus thuringiensis* é um bacilo presente no solo; um dos representantes das espécies de bactérias gram-positivas³ que produz uma proteína inseticida altamente ativa (ILSI 1999 apud Knowles 1994) e que durante a esporulação⁴ a bactéria produz uma inclusão cristalina de proteínas (uma ou mais proteínas) chamadas de δ - endotoxinas⁵ que quando ingeridas pelos insetos alvos começam uma cadeia de reações resultando em morte.

Como mencionado anteriormente, inseticidas que têm sua formulação baseada na bactéria de solo *Bacillus thuringiensis*; doravante denominada apenas *Bt*, são os mais comumente utilizados (ILSI 1999 apud Höfle e Whitely 1989). O *Bt* tem suas atuações mais relevantes nas mais importantes pestes, de impacto econômico, das ordens dos lepidópteros (Ex: borboletas e mariposas ou traças), coleópteros (Ex: besouros ou escaravelhos, joaninhas, vaga-lumes) e dípteros (Ex: mosquitos e borrachudos); sua atuação acontece após a ingestão e dá-se no intestino do inseto causando-lhe a morte.

Apesar de utilizado a mais de 50 anos na forma de aerossol principalmente em plantações orgânicas (ILSI 1999 apud Cannon 1993) os inseticidas a base de *Bt* não foram adotados em larga escala pelos grandes produtores, devido principalmente ao seu alto custo, baixo espectro de ação e rápida degradação no ambiente.

Devido a avanços nas técnicas de manipulação genética tornou-se possível a inserção e expressão das toxinas *Bt* em plantações para larga escala (ILSI 1999 apud Gasser e Fraley 1989, Koziel et al. 1993, Fischhoff 1996). Desta maneira tornou-se possível superar várias deficiências dos inseticidas com base *Bt* nas plantações com o gene em questão inserido e que expressaram um alto nível da toxina durante o crescimento.

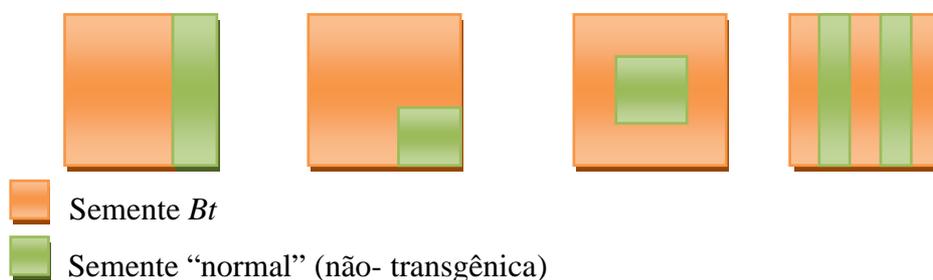
³ Bactérias que reagem a uma técnica de coloração para observação ao microscópio, *gram positivos* (roxo) ou *gram negativos* (vermelho).

⁴ Processo de eliminação de esporos que são as unidades de reprodução das plantas.

⁵ É uma toxina que é parte integrante da célula algumas bactérias e só é libertada após sua destruição. São também chamadas toxinas intracelulares.

3. MÉTODO DE GERENCIAMENTO

Para combater a risco do desenvolvimento de resistência, a estratégia de áreas de refúgio (*high dose – refugy*) foi amplamente adotada na prática e abordada em dezenas de trabalhos nos últimos anos (Bruce 2003 et al. apud Georghiou and Taylor 1977, Tabashnik and Croft 1982, Roush 1994, Gould 1998, Peck et al. 1999, Caprio 2001, Onstad et al. 2002). O método consiste primeiramente em plantar em conjunto com a semente transgênica, sementes “normais” (não-transgênicas) em determinada proporção a área total de cultivo, podendo a determinação geográfica ou geométrica ser bem diversificada como seguem alguns exemplos abaixo:



Este trabalho toma por base o último exemplo com somente uma faixa de cada tipo de semente somente para fins ilustrativos, não ocasionando perda de generalidade para o exercício proposto.

As sementes então são plantadas conforme o esquema escolhido anteriormente, seguindo uma proporção Q e $1-Q$ para cada tipo de semente que em conjunto devem ocupar a área total plantada. Devemos supor também que a área não – transgênica plantada é suficientemente grande para poder sustentar uma população puramente suscetível após a introdução da semente transgênica.

O segundo passo é constituído pelo acompanhamento da plantação e obtenção de dados para tomada das decisões futuras. Os principais dados que devem ser monitorados são: tamanho da população do inseto em cada área (em número de insetos), taxa de migração entre as áreas (porcentagem de insetos que saem de determinada área para a área adjacente), e constituição gênica das populações (número ou proporção de indivíduos RR, RS, SS).

Em terceiro vem à análise dos dados obtidos e a tomada de decisão e por fim as intervenções feitas na plantação que, neste método estão restritas a: aplicação de agroquímicos e defensivos agrícolas, redimensionamento e realocação das áreas plantadas.

4. ABORDAGENS

Podemos abordar o problema em questão de maneiras diferentes, que não alteram o método em si, mas apenas o parâmetro a ser considerado como controle no modelo.

A abordagem escolhida dependerá basicamente do que for escolhido como parâmetro limitante para o controle, sendo os mais utilizados:

- A - Frequência do gene resistente
- B - Número de indivíduos resistentes
- C - Número de indivíduos total
- D - Tamanho da área de refugio
- E - Tempo para desenvolvimento de resistência populacional

A importância desses parâmetros está baseada principalmente no impacto produtivo da área total, o que obviamente resultará em perdas econômicas para os produtores.

Os parâmetros A, B, C são comumente utilizados por estarem relacionados ao impacto da praga em si e os prejuízos que eles incorrem bem como a possibilidade da população se tornar resistente. Já o parâmetro D apesar de também ter seu foco principal o aspecto financeiro ele se mostra relevante não somente pela praga em si, mas por termos na semente ali plantada uma produtividade e qualidade inferior de grãos se comparada à semente *Bt*, o que invariavelmente afeta o economicamente o agricultor.

O parâmetro E existe em função dos parâmetros A e B e corresponde ao tempo necessário para que pelo menos um deles atinja um limite estabelecido previamente.

A abordagem ideal seria aquela que pudesse unir a menor área de refugio ($\downarrow D$) com o menor número total de indivíduos ($\downarrow C$) e maior tempo para desenvolvimento da resistência populacional ($\uparrow E$).

5. MODELO

O modelo estudado aqui é uma função recursiva em $P(t)$, o que significa que a configuração no próximo passo, $P(t+1)$, é estritamente dependente do passo atual.

Seja $P(t) = \begin{pmatrix} P_1(t) \\ P_2(t) \end{pmatrix}$; que são a proporção do gene que garante a resistência na área transgênica e não – transgênica, respectivamente, no instante de tempo t ; e consideremos $X(t) = \begin{pmatrix} X_1(t) \\ X_2(t) \end{pmatrix}$ o vetor análogo referente a quantidade de indivíduos adultos antes da migração (é assumida uma proporção 1:1 em relação ao sexo dos insetos).

Sabemos que os insetos dispersão de sua área natal ⁶segundo proporções obtidas através de uma matriz de transição M .

Temos que essa dispersão dos indivíduos é dada por M (M_m para machos e M_f para fêmeas) onde $i, j = 1$ para área Bt e $i, j = 2$ para área de refúgio e o elemento ij dá a proporção da população de machos e fêmeas nos campos i que se dispersou para o campo j .

Seja M definida por:

$$M = \begin{pmatrix} \frac{z_{1s}}{z_{1s}+z_{1d}} & \frac{z_{1d}}{z_{1s}+z_{1d}} \\ \frac{z_{2d}}{z_{2s}+z_{2d}} & \frac{z_{2s}}{z_{2s}+z_{2d}} \end{pmatrix}$$

Onde z representa o número de indivíduos considerando-se apenas um dos sexos (machos ou fêmeas) nas áreas 1-BT e 2- refúgio, o índice s está representando os insetos do sexo considerado que permanecem nestas áreas e d representa a mesma medida agora para os indivíduos que dispersam dessas regiões, sejam esses valores considerados para machos dados por:

$$M_m = \begin{pmatrix} \frac{z_{1s}}{z_{1s}+z_{1d}} & \frac{z_{1d}}{z_{1s}+z_{1d}} \\ \frac{z_{2d}}{z_{2s}+z_{2d}} & \frac{z_{2s}}{z_{2s}+z_{2d}} \end{pmatrix}$$

Para cada z no exemplo citado anteriormente temos a composição que segue:

⁶ Área de nascimento.

$$z_{1s} = (1 - r_{1m} + (1 - Q)r_{1m})x_1(t)$$

$$z_{2s} = (1 - r_{2m} + Qr_{2m})x_2(t)$$

$$z_{1d} = (1 - Q)r_{2m}x_2(t)$$

$$z_{2d} = Qr_{1m}x_1(t)$$

Nas equações acima r é a variável que representa a proporção de machos que dispersam das áreas 1 e 2 (BT e refúgio respectivamente) e Q definido anteriormente como a proporção de área plantada como refúgio.

A obtenção de M_f segue raciocínio equivalente.

Quando definimos os parâmetros de sobrevivência temos que os mesmos seguem o quadro definido a seguir onde L e k são as taxas de sobrevivência dos fenótipos resistentes e suscetíveis, respectivamente, na área plantada com Bt e g é a sobrevivência de ambos os fenótipos nas áreas de refúgio, podendo ser g a resistência natural pura ou a um determinado inseticida aplicado na área.

Tabela 1

Taxa de sobrevivência			
Área / Genótipo	SS	RS	RR
BT	k	$Lh + k(1-h)$	L
Refúgio	g	g	g

S: Alelo⁷ responsável pela herança suscetível

R: Alelo responsável pela herança resistente

h : parâmetro utilizado para identificar a existência de dominância⁸ de R sobre S (1 para dominante e 0 para recessivo⁹).

A escolha de h é determinada empiricamente através de conhecimentos entomológicos da espécie de peste de interesse. Em caso de não existirem esses dados, é assumido o valor conhecido de uma espécie que mais se aproxima biologicamente da espécie em estudo.

$$\Lambda_{RR} = \begin{pmatrix} L & 0 \\ 0 & g \end{pmatrix} \quad \Lambda_{RS} = \begin{pmatrix} Lh + (1-h)k & 0 \\ 0 & g \end{pmatrix}$$

⁷ **Alelo** é cada uma das várias formas alternativas do mesmo gene.

⁸ **Gene dominante** é um gene que no estado heterozigótico se expressa com predominância sobre a expressão do gene recessivo. Um indivíduo heterozigoto carrega consigo dois alelos diferentes do mesmo gene.

⁹ **Gene recessivo** é um gene cuja característica não aparece expressa, no estado heterozigótico.

$$\Lambda_{SS} = \begin{pmatrix} k & 0 \\ 0 & g \end{pmatrix}$$

As matrizes Λ acima definem a sobrevivência de cada genótipo no par de áreas estudadas e são obtidas através do produto do vetor do genótipo, obtido das colunas da *tabela 1*, pela matriz identidade $I_2 = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix}$.

Sendo W_{RR}, W_{RS}, W_{SS} as variáveis que respondem pelo número relativo de larvas com genótipos RR, RS e SS que sobrevivem nos campos Bt e refúgio e assumindo que o acasalamento dá-se de maneira aleatória dentro de cada área plantada; temos:

$$W_{RR} = \Lambda_{RR} M_f (P(t) \times (M_m P(t)))$$

$$W_{RS} = \Lambda_{RS} M_f ((1 - P(t)) \times (M_m P(t)) + P(t) \times (1 - M_m P(t)))$$

$$W_{SS} = \Lambda_{SS} M_f ((1 - P(t)) \times (1 - M_m P(t)))$$

Sendo \times a representação do produto de Schur para dois vetores.

Sendo o produto de Schur (elemento a elemento) definido por:

$$\begin{pmatrix} a \\ b \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} c \\ d \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} ac \\ bd \end{pmatrix}$$

No caso acima teríamos para $P(t) \times (M_m P(t))$ em W_{RR} o seguinte resultado:

$$\begin{aligned} (P(t) \times (M_m P(t))) &= \begin{pmatrix} P_1(t) \\ P_2(t) \end{pmatrix} \times \left(\begin{pmatrix} \frac{z_{1s}}{z_{1s}+z_{1d}} & \frac{z_{1d}}{z_{1s}+z_{1d}} \\ \frac{z_{2s}}{z_{2s}+z_{2d}} & \frac{z_{2d}}{z_{2s}+z_{2d}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} P_1(t) \\ P_2(t) \end{pmatrix} \right) \\ &= \begin{pmatrix} P_1(t) \\ P_2(t) \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} \frac{z_{1s}}{z_{1s}+z_{1d}} P_1(t) + \frac{z_{1d}}{z_{1s}+z_{1d}} P_2(t) \\ \frac{z_{2s}}{z_{2s}+z_{2d}} P_1(t) + \frac{z_{2d}}{z_{2s}+z_{2d}} P_2(t) \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} P_1(t) \left(\frac{z_{1s}}{z_{1s}+z_{1d}} P_1(t) + \frac{z_{1d}}{z_{1s}+z_{1d}} P_2(t) \right) \\ P_2(t) \left(\frac{z_{2s}}{z_{2s}+z_{2d}} P_1(t) + \frac{z_{2d}}{z_{2s}+z_{2d}} P_2(t) \right) \end{pmatrix} \end{aligned}$$

A equação W_{RR} pode ser explicada da seguinte maneira:

Como já dito $P(t)$ é o vetor que representa a frequência de resistentes antes do acasalamento, devemos lembrar que a dispersão de fêmeas só ocorre após a cópula¹⁰, e M a matriz que rege a dispersão dos insetos para as áreas adjacentes o vetor resultante de $M_m P(t)$ representa as frequências de machos em ambas as áreas após a dispersão masculina, quando aplicamos o produto de Schur por $P(t)$ a $M_m P(t)$ obteremos a frequência de ovos homozigotos¹¹ RR nas áreas Bt e refúgio; porém devemos levar em conta que antes da colocação dos ovos as fêmeas dispersam entre as áreas plantadas de acordo com a matriz M_f aplicando-se a dispersão ao resultado obtido anteriormente, $M_f (P(t) \times (M_m P(t)))$, iremos chegar à distribuição de homozigotos RR nas áreas plantadas respectivamente, após a obtenção da proporção de homozigotos RR em cada área, ainda devemos levar em consideração que temos uma taxa de sobrevivência desses ovos diferentes dentro de cada área. Para tanto ponderamos o resultado anterior por A_{RR} e assim obteremos efetivamente o número de larvas RR sobreviventes dentro dos campos Bt e refúgio.

Podemos explicar W_{RS} e W_{SS} de maneira semelhante ao caso particular acima.

A mudança na frequência do alelo resistente (R) é dada pela função recursiva:

$$P(t+1) = (W_{RR} + W_{RS}/2) \times (W_{RR} + W_{RS} + W_{SS})^{-1}$$

Sendo -1 a representação da inversão do produto de Schur (elemento a elemento):

$$\begin{pmatrix} a \\ b \end{pmatrix}^{-1} = \begin{pmatrix} 1/a \\ 1/b \end{pmatrix}$$

A mudança dessa frequência, também conhecida por *taxa de evolução da resistência*, é muito importante e comumente considerada como parâmetro de controle em algumas estratégias de controle ao invés de tomarem o número absoluto de indivíduos resistentes ou as abordagens citadas anteriormente.

A taxa de evolução de resistência é altamente dependente do tamanho da população de insetos nas áreas de refúgio e Bt , isso porque o tamanho da população impacta a matriz que responde pelo movimento entre as áreas dos machos e das fêmeas (M_m e M_f respectivamente).

¹⁰ Fecundação da fêmea pelo macho

¹¹ Homozigoto é um termo da genética para indicar que os alelos presentes em um *locus* genético são idênticos; ex: RR , SS

Heterozigoto é um termo da genética para indicar que os alelos presentes em um *locus* genético são diferentes; ex: RS

O vetor $X'(t) = \begin{pmatrix} X'_1(t) \\ X'_2(t) \end{pmatrix}$ que representa o número de larvas dentro da área com a semente Bt e refúgio após a dispersão das fêmeas e o processo de seleção natural (densidade dependente) é dado por:

$$X'(t) = (DX(t)) \times (W_{RR} + W_{RS} + W_{SS})$$

D representa a matriz abaixo dada a dispersão de fêmeas entre as áreas e fecundidade:

$$D = \begin{pmatrix} \left((1 - r_{1f}) + (1 - Q)r_{1f} \right) F_1 & (1 - Q)r_{2f}F_1 \\ Qr_{1f}F_2 & \left((1 - r_{2f}) + Qr_{2f} \right) F_2 \end{pmatrix}$$

A equação de $X'(t)$ é obtida facilmente se percebe-se que do produto $DX(t)$ resulta justamente a distribuição de fêmeas logo após a dispersão e, portanto, representa o número de ovos; notar também que as matrizes W representam o número relativo de cada genótipo logo após a mortalidade devido à presença da toxina Bt .

O modelo analisado aqui leva em consideração que a sobrevivência na fase larval é densidade-dependente¹² após a ação da toxina e para tanto temos as seguintes funções a serem consideradas:

$$f \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} = \begin{pmatrix} x_1 f_1[x_1] \\ x_2 f_2[x_2] \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_1 (1 + ax_1/(1 - Q))^{-b} \\ x_2 (1 + ax_2/Q)^{-b} \end{pmatrix}$$

Nota-se que o número de larvas dentro das áreas é convertido em densidade ao dividirmos a variável representativa deste número pela área respectiva de cada qualidade de semente.

Por fim temos que o tamanho da população é obtido através da função recursiva:

$$X(t + 1) = f[X'(t)]$$

A função anterior em conjunto com:

$$P(t + 1) = (W_{RR} + W_{RS}/2) \times (W_{RR} + W_{RS} + W_{SS})^{-1}$$

Fornece-nos o modelo completo relacionado ao esquema mostrado no *Quadro 1*.

¹² Dependente da concentração (número) de insetos na região.

A equação recursiva no tempo $P(t+1)$ pode ser decomposta para ser analisado isoladamente o impacto e relevância de cada termo nos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da resistência abordada, como segue da maneira abaixo:

$$\frac{\bar{P}(t+1) - \bar{P}(t)}{\bar{P}(t)} \cong S_0 + \Delta_s + \eta + \mu$$

S_0 : representa o efeito da seleção natural no caso de mistura completa. O caso de mistura completa dá-se quando $r_{im} = r_{if} = 1$ e ocorre quando cada geração de adultos distribui-se completa e proporcionalmente entre as áreas plantas (Q e $I-Q$) e é definido por:

$$S_0 = \frac{1}{\bar{p}(t)} X^* \left\{ (\Theta_{RR} - I) M_0 (P(t) \times (M_0 P(t))) + \frac{1}{2} \Theta_{RS} M_0 [I + M_0] P(t) \right\} - 1$$

Δ_s : representa a variação no efeito da seleção natural em caso de mistura parcial. Esse efeito pode ser observado quando temos uma menor migração de fêmeas fecundas¹³ para a área Bt . É dado por:

$$\Delta_s = \frac{1}{\bar{p}(t)} X^* \left\{ (\Theta_{RR} - I) (M_f - M_0) (P(t) \times (M_0 P(t))) + \frac{1}{2} \Theta_{RS} (M_f - M_0) [I + M_0] P(t) \right\}$$

η : relaciona-se ao cruzamento preferencial¹⁴ gerado pelo tipo de estrutura espacial das áreas plantada:

$$\eta = \frac{1}{\bar{p}(t)} X^* \left\{ (\Theta_{RR} - I) M_f (P(t) \times ((I - M_0) (M_m - M_0) P(t))) \right\}$$

¹³ Prestes a reproduzir.

¹⁴ Cruzamento preferencial toma lugar quando organismos sexualmente reprodutores tendem a acasalar com indivíduos que são semelhantes a si próprios em algum aspecto (acasalamento preferencial positivo) ou diferentes (acasalamento preferencial negativo). Em evolução, estes dois tipos de acasalamento preferencial tem o efeito de reduzir e aumentar a gama de variação, respectivamente, quando as características preferenciais são hereditárias.

μ : resulta da variação de acasalamentos bem sucedidos (machos) gerados pela estrutura espacial das áreas plantadas, obtido da seguinte maneira:

$$\mu = \frac{1}{\bar{p}(t)} X^* \left\{ (\Theta_{RR} - I) M_f (P(t) \times (M_0 (M_m - M_0) P(t))) + \frac{1}{2} \Theta_{RS} M_f [M_m - M_0] P(t) \right\}$$

7. DADOS E SIMULAÇÃO

Loop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
z1 s-macho	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49
z2 s-macho	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46
z1 d-macho	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
z2 d-macho	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
z1 s-femea	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49
z2 s-femea	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46	46
z1 d-femea	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
z2 d-femea	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
MM11-macho	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453
MM12-macho	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547
MM21-macho	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128
MM22-macho	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872
MM11-femea	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453	0.92453
MM12-femea	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547	0.07547
MM21-femea	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128	0.02128
MM22-femea	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872	0.97872
ARR11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ARR12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ARR21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ARR22	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
ARS11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ARS12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ARS21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ARS22	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
ASS11	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
ASS12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ASS21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ASS22	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
WRR1	0.00000	0.22722	0.43722	0.50013	0.50995	0.50877	0.50677	0.50550	0.50484	0.50452	0.50437	0.50431	0.50428
WRR2	0.00000	0.06531	0.15688	0.20964	0.23403	0.24471	0.24933	0.25133	0.25219	0.25256	0.25272	0.25279	0.25282
WR S1	0.00050	0.37199	0.49681	0.54611	0.56608	0.57411	0.57738	0.57874	0.57931	0.57956	0.57966	0.57970	0.57972
WR S2	0.00048	0.30315	0.48738	0.55658	0.57904	0.58633	0.58883	0.58973	0.59008	0.59022	0.59028	0.59030	0.59031
WSS1	0.00000	0.00024	0.00021	0.00019	0.00019	0.00019	0.00019	0.00020	0.00020	0.00020	0.00020	0.00020	0.00020
WSS2	0.00046	0.17934	0.22589	0.23391	0.23486	0.23480	0.23469	0.23462	0.23459	0.23457	0.23457	0.23456	0.23456
P1(t+1)	0.49975	0.68933	0.73388	0.73887	0.73683	0.73478	0.73359	0.73298	0.73269	0.73256	0.73250	0.73248	0.73247
P2(t+1)	0.25294	0.39592	0.46035	0.48787	0.49961	0.50465	0.50683	0.50777	0.50817	0.50835	0.50843	0.50846	0.50847

8.CONCLUSÃO

8.1 Efeitos da Dispersão

Para ilustrar o efeito combinado dos componentes da evolução da resistência indicados na análise anterior os gráficos abaixo usam o modelo descrito em uma simulação para averiguar o impacto de uma eventual redução na dispersão dos insetos de suas áreas natal. No caso ilustrado no trabalho de Ives & Andow e reproduzido aqui assim como em outros trabalhos que utilizam este modelo, a redução na dispersão dos insetos fez com que o número de gerações necessárias para a falha do controle aumentasse.

O resultado obtido é consistente a outros estudos de simulação (Ives e Andow, 2002 apud Caprio & Tabashnik 1992; Caprio 2001). O resultado mostra que não é necessário termos um alto nível de dispersão para que o método de áreas de refúgio seja eficaz.

Para um melhor entendimento do efeito, o gráfico abaixo mostra a composição genética da população e os valores dos componentes da equação decomposta medidos no ponto onde a frequência do alelo R é $p_{-}(t)=0.001$ (frequência inicial a partir da qual a falha do controle é medida , sendo ela definida por $p_{-}(t)=0.5$).

É de fato procedente a afirmação que diz que ao reduzirmos a dispersão, a frequência média de indivíduos RR irá aumentar entre os campos em relação ao caso onde temos mistura completa \bar{Q} e que isso por si só aumentaria a taxa de evolução da resistência \bar{Q} ; no entanto esse efeito apesar de observado é muito pequeno. Reduzindo a dispersão reduz-se também a morte de indivíduos suscetíveis em comparação ao caso de mistura completa \bar{Q} , pois uma menor quantidade de insetos suscetíveis dispersam da área de refugio para morreram na área Bt . Este fato acaba por reduzir a vantagem adaptativa dos indivíduos resistentes e, portanto, reduz a taxa da evolução da resistência \bar{Q} .

Reduzir a dispersão também resulta numa queda no sucesso de reprodução de indivíduos machos que carregam o gene resistente, porque esses machos são mais facilmente encontrados em abundância nas áreas Bt onde se tem uma baixa oferta de fêmeas e, grande dispersão dos indivíduos SS para a área de refúgio. Isso acarreta numa menor frequência da transferência do gene R para as fêmeas durante o acasalamento em

comparação a frequência desse alelo na população média entre os diferentes campos \bar{Q} e sendo assim desacelerando a evolução da resistência \bar{Q} .

O efeito da dispersão na taxa da evolução da resistência é apenas levemente correlacionado com o seu efeito na população total; enquanto reduzir a dispersão aumenta o número de gerações para a falha do controle em 2 ordens, ele aumenta a densidade da população da peste por um fator menor do que 2.

A equação em 1 derivou a partir dos pressupostos de que (i) uma população unicamente suscetível pode sobreviver no ambiente Bt e refúgio e (ii) que a densidade de indivíduos suscetíveis nos campos está em fase de distribuição quase – estacionárias, aqui entendida como o momento em que a densidade de indivíduos suscetíveis está em equilíbrio após a introdução da semente Bt .

Conforme Ives & Andow notaram, ao examinarmos as consequências das quebras desses pressupostos no modelo (fig1) para o caso onde a fecundidade feminina é baixa ($f_1=f_2=10$); quando a área de refugio é inferior a 10% uma população puramente suscetível não consegue se manter (fig3.a) o que viola a primeira (i) suposição.

A suposição (ii) foi explorada alterando-se a frequência inicial do alelo R quando a semente Bt é introduzida; particularmente foi feito com que a frequência inicial do alelo R na área de refugio e Bt fosse 0.0001, 0.0002, 0.0005 e 0.001.

Nas simulações foi utilizado como critério de parada o número de gerações para que a frequência do alelo R saísse de 0.001 para 0.5, logo quando a frequência inicial foi 0.001 a contagem começou a ser feita desde a introdução da semente Bt . Nos outros casos foi esperado até que a frequência do alelo chegasse a 0.001 para iniciar a contagem, nesses casos a densidade da população de suscetíveis tem tempo para alcançar a distribuição quase – estacionária para satisfazer o pressuposto (ii)

Quando uma população puramente suscetível não consegue manter-se, violando a pressuposição (i) o tempo para que ocorra a falha no controle cai drasticamente e o modelo estudado acaba por superestimar o tempo para controle (fig3.b).

Como era esperado, quanto menor o refugio, mais rápido a população tende a extinção e mais rápido também se dá a evolução da resistência. Este fato deve-se a não existência de população suscetível suficiente para servir como refúgio e manutenção do gene suscetível na população. No entanto quando a população suscetível consegue

manter-se os resultados da simulação para as frequências citadas são muito similares entre si e com o resultado proposto pela equação 1.

Quando a população não se encontra no estado estacionário, o que viola o pressuposto (ii) a taxa de evolução não se desenvolve de acordo com o previsto no modelo (equação 1). Esse efeito pode ser observado com maior força no caso onde a frequência de alelo R é 0.001 e nas simulações conduzidas por Ives & Andow e aqui neste trabalho a taxa da evolução da resistência é superior do que no caso de distribuição estacionária onde a frequência inicial do alelo R é inferior a 0.001.

Citado anteriormente neste texto e originalmente por Peck et al. (1999), usar a frequência do alelo R como parâmetro de controle pode não ser a melhor medida ; usar a densidade populacional nos campos Bt mostrou-se uma medida mais acurada.

A figura 3c foi gerada com os mesmos parâmetros da fig 3b com exceção a medida de controle, que neste caso foi utilizada a densidade do inseto no campo Bt e considerado como critério de parada (valor ou ponto que se defini como ocorrida a falha no controle) o momento onde a densidade alcançou metade (50%) da densidade original quando em equilíbrio estacionário no momento de introdução da semente Bt na área, e tendo como instante inicial de contagem o ponto onde a frequência do alelo R é 0.001.

Utilizando esta abordagem o tempo para ocorrência da falha no controle aumenta sutilmente quando a área de refúgio é inferior a 10% (população não persistente) para frequências pequenas do alelo R ($p_0=0.0001$). Os indícios mostram que isso se deve ao fato da população alcançar densidades muito pequenas antes que a resistência alcance uma parcela significativa da população; apesar da frequência do alelo R alcançar uma frequência de 0.5 em tempo inferior do que no caso dos insetos suscetíveis persistirem, quando isso ocorrer a densidade alcançou patamares tão baixos que levará um longo período de tempo para que a população de insetos alcance uma densidade similar ao período anterior a inserção da semente transgênica.

Implicações: A estratégia abordada neste trabalho, áreas de refúgio, foi considerada pois a área de refúgio serve como geradora de insetos suscetíveis para acasalarem com os resistentes , para que assim a prole desse cruzamento seja heterozigotos de genótipo RS que por sua vez morrem em contato com as sementes Bt . (Anônimo 1998; Gould 1998). Apesar dessa assunção estar correta, ela é incompleta e leva a conclusões errôneas sobre os parâmetros que são responsáveis pelo desenvolvimento de resistência.

As duas principais recomendações para a elaboração de estratégias de gerenciamento de resistência são:

- A taxa de transição de insetos da área de refúgio para a área transgênica deve ser estimulada para que assim se possa garantir o cruzamento aleatório entre os adultos suscetíveis da área de refúgio e os resistentes da área *Bt* (Roush 1997; Gould 1998).
- Se diminuirmos a população total de indivíduos na área de refúgio (como por exemplo através do uso de inseticidas) isso faria com que um número menor de insetos suscetíveis migrassem e acasalassem com os indivíduos resistentes da plantação *Bt* e portanto reduziria o benefício criado pela área de refúgio. (Roush 1989; Ostile et al. 1977; Roush 1997; Gould & Tabashnik 1998; Shelton et al. 2000).

Essas recomendações não são gerais ou únicas e estão fundamentadas nos conhecimentos obtidos até aqui que devido a escassez de dados entre outros fatores, não proporcionaram um entendimento completo dos fatores que afetam o desenvolvimento da resistência dentro da estratégia de áreas de refúgio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTHONY R.I. I, ANDOW D.A. **Evolution of Resistance to Bt Crops: Directional Selection in Structured Environments**. Minnesota,2002.

Disponível em: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/118932108/abstract>. Acesso em 15/07/2008.

BRUCE, E. T. et al. **Insect Resistance to Transgenic Bt Crops: Lessons from the Laboratory and Field**. Arizona: University of Arizona, 2003. Disponível

em: <http://www.bioone.org/perlserv/?request=get-pdf&doi=10.1603%2F0022-0493%282003%29096%5B1031%3AIRTTBC%5D2.0.CO%3B2> . Acesso em 15/07/08

ILSI-INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE. **An Evaluation Of Insect Resistance Management In Bt Field Corn: A Science-Based Framework For Risk Assessment And Risk Management**. Washington, D.C.,1998. Disponível em:

<http://www.hesiglobal.org/> . Acesso em 20/04/2008.

BIBLIOGRAFIA

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY.
Cartagena Protocol On Artagena Protocol On Biosafety To The Convention On Biological Diversity. Montreal, 2000.

Disponível em: <http://www.cbd.int/doc/legal/cartagena-protocol-en.pdf>. Acesso em 28/08/2008.

GRIMSRUD.K.M.,HUFFAKER.R..**OptimalControl Of Pest Resistance To Transgenic Crop Varieties.** Chicago,2001.

Disponível em: <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/20452/1/sp01gr02.pdf>. Acesso em 06/10/2008.

ANEXO A

1. CÓDIGO

Código escrito em Visual Basic com saída de dados em Excel apenas para sugestão de simulação, este código foi utilizado para simular alguns casos com intuito comparativo aos resultados obtidos pelos autores citados ao longo do trabalho. Este código não ter objetivos comerciais e não está em sua versão acabada e livre de erros. O autor não se responsabiliza pelos usos diversos ao estudo.

```

Begin VB.Form Form1
    BorderStyle = 1 'Fixed Single
    Caption = "Simulação"
    ClientHeight = 7950
    ClientLeft = 45
    ClientTop = 345
    ClientWidth = 7575
    LinkTopic = "Form1"
    LockControls = -1 'True
    MaxButton = 0 'False
    MinButton = 0 'False
    ScaleHeight = 7950
    ScaleWidth = 7575
    StartUpPosition = 2 'CenterScreen
Begin VB.TextBox txtP1
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 780
    MaxLength = 10
    TabIndex = 19
    Text = "Text1"
    Top = 5370
    Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtP2
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 780
    MaxLength = 10
    TabIndex = 20
    Text = "Text1"
    Top = 5850
    Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtX1
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 780
    MaxLength = 10
    TabIndex = 21
    Text = "Text1"
    Top = 6390
    Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtX2
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 780
    MaxLength = 10
    TabIndex = 22
    Text = "Text1"
    Top = 6870
    Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtNumero
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 1920
    MaxLength = 10
    TabIndex = 24
    Text = "Text1"
    Top = 7410
    Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtI
    BeginProperty Font
        Name = "Arial"
        Size = 9.75
        Charset = 0
        Weight = 400
        Underline = 0 'False
        Italic = 0 'False
        Strikethrough = 0 'False
    EndProperty
    Height = 345
    Left = 780
    MaxLength = 10
    TabIndex = 25
    Text = "Text1"
    Top = 7890
    Width = 1155
End

```

```

EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 18
Text = "Text1"
Top = 4650
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtg
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 17
Text = "Text1"
Top = 4170
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtk
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 16
Text = "Text1"
Top = 3630
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtr2f
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 15
Text = "Text1"
Top = 3150
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtr2m
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 14
Text = "Text1"
Top = 2700
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtr1f
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 13
Text = "Text1"
Top = 2190
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtr1m
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 12
Text = "Text1"
Top = 1710
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txth
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 345
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 11
Text = "Text1"
Top = 1230
Width = 1155
End
Begin VB.TextBox txtQ
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 400
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 315
Left = 780
MaxLength = 10
TabIndex = 10
Text = "Text1"
Top = 750
Width = 1155

```



```

End
Begin VB.Label Label7
Caption = "r2f:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 6
Top = 3180
Width = 495
End
Begin VB.Label Label6
Caption = "r2m:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 5
Top = 2700
Width = 495
End
Begin VB.Label Label5
Caption = "r1f:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 4
Top = 2220
Width = 495
End
Begin VB.Label Label4
Caption = "r1m:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 3
Top = 1740
Width = 495
End
Begin VB.Label Label3
Caption = "h:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 1
Top = 780
Width = 495
End
Begin VB.Label Label2
Caption = "Q:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 9.75
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 285
Left = 180
TabIndex = 1
Top = 780
Width = 495
End
Begin VB.Label Label1
Caption = "Parâmetros Iniciais:"
BeginProperty Font
Name = "Arial"
Size = 12
Charset = 0
Weight = 700
Underline = 0 'False
Italic = 0 'False
Strikethrough = 0 'False
EndProperty
Height = 375
Left = 150
TabIndex = 0
Top = 120
Width = 2355
End
End
Attribute VB_Name = "Form1"
Attribute VB_GlobalNameSpace = False
Attribute VB_Creatable = False
Attribute VB_PredeclaredId = True
Attribute VB_Exposed = False
Option Explicit

'variável usada para verificar se já foi processado uma vez
'0=novo processamento,1=continuar
processamento,2=cancelar operação
Dim ja_existe As Byte

'variável para pegar a resposta do usuário no msgbox
Dim vMsg As VbMsgBoxResult

'variável que controla o loop
Dim n As Long 'contador interno do programa
Dim numero_vezes As Long 'total de vezes do loop obtido
dos parâmetros iniciais

'variáveis dos inputs
Dim Q As Double
Dim h As Double
Dim r1m As Double
Dim r1f As Double
Dim r2m As Double
Dim r2f As Double
Dim k As Double
Dim g As Double
Dim L As Double

```

```

Dim P1 As Double
Dim P2 As Double
Dim x1 As Double
Dim x2 As Double

'variáveis dos cálculos
Dim z1s_macho As Double
Dim z2s_macho As Double
Dim z1d_macho As Double
Dim z2d_macho As Double

Dim z1s_femea As Double
Dim z2s_femea As Double
Dim z1d_femea As Double
Dim z2d_femea As Double

Dim MM11_macho As Double
Dim MM12_macho As Double
Dim MM21_macho As Double
Dim MM22_macho As Double

Dim MM11_femea As Double
Dim MM12_femea As Double
Dim MM21_femea As Double
Dim MM22_femea As Double

Dim ARR11 As Double
Dim ARR12 As Double
Dim ARR21 As Double
Dim ARR22 As Double

Dim ARS11 As Double
Dim ARS12 As Double
Dim ARS21 As Double
Dim ARS22 As Double

Dim ASS11 As Double
Dim ASS12 As Double
Dim ASS21 As Double
Dim ASS22 As Double

Dim WRR1 As Double
Dim WRR2 As Double

Dim WRS1 As Double
Dim WRS2 As Double

Dim WSS1 As Double
Dim WSS2 As Double

Dim X As Double
Dim Pt As Double
Dim Pt1 As Double

Sub PRIMEIRO_PASSO()

z1s_macho = (1 - r1m + ((1 - Q) * r1m)) * x1
z2s_macho = (1 - r2m + (Q * r2m)) * x2
z1d_macho = (1 - Q) * r2m * x2
z2d_macho = Q * r1m * x1

z1s_femea = (1 - r1f + ((1 - Q) * r1f)) * x1
z2s_femea = (1 - r2f + (Q * r2f)) * x2
z1d_femea = (1 - Q) * r2f * x2
z2d_femea = Q * r1f * x1

End Sub

Sub SEGUNDO_PASSO()

MM11_macho = z1s_macho / (z1s_macho + z1d_macho)
MM12_macho = z1d_macho / (z1s_macho + z1d_macho)
MM21_macho = z2d_macho / (z2s_macho + z2d_macho)
MM22_macho = z2s_macho / (z2s_macho + z2d_macho)

MM11_femea = z1s_femea / (z1s_femea + z1d_femea)
MM12_femea = z1d_femea / (z1s_femea + z1d_femea)
MM21_femea = z2d_femea / (z2s_femea + z2d_femea)
MM22_femea = z2s_femea / (z2s_femea + z2d_femea)

End Sub

Sub TERCEIRO_PASSO()

ARR11 = L
ARR12 = 0
ARR21 = 0
ARR22 = g

ARS11 = (L * h) + (1 - h) * k
ARS12 = 0
ARS21 = 0
ARS22 = g

ASS11 = k
ASS12 = 0
ASS21 = 0
ASS22 = g

End Sub

Sub QUARTO_PASSO()

'=>cálculo da matriz WRR
'calcular ARR x Mf
Dim arrXmf11 As Double
Dim arrXmf12 As Double
Dim arrXmf21 As Double
Dim arrXmf22 As Double

arrXmf11 = ARR11 * MM11_femea + ARR12 * MM21_femea
arrXmf12 = ARR11 * MM12_femea + ARR12 * MM22_femea
arrXmf21 = ARR21 * MM11_femea + ARR22 * MM21_femea
arrXmf22 = ARR21 * MM12_femea + ARR22 * MM22_femea

'calcular P(t) x MmP(t)
WRR1 = P1 * (MM11_macho * P1 + MM12_macho * P2)
WRR2 = P2 * (MM21_macho * P1 + MM22_macho * P2)

'calcular ARRXMf X (P(t) X MmP(t)
WRR1 = arrXmf11 * WRR1 + arrXmf12 * WRR2
WRR2 = arrXmf21 * WRR1 + arrXmf22 * WRR2
'<=

'=>cálculo da matriz WRS
'calcular WRS x Mf
Dim wrsXmf11 As Double
Dim wrsXmf12 As Double
Dim wrsXmf21 As Double
Dim wrsXmf22 As Double

wrsXmf11 = ARS11 * MM11_femea + ARS12 * MM21_femea
wrsXmf12 = ARS11 * MM12_femea + ARS12 * MM22_femea
wrsXmf21 = ARS21 * MM11_femea + ARS22 * MM21_femea
wrsXmf22 = ARS21 * MM12_femea + ARS22 * MM22_femea

'calcular (1-P(t)) X (MmP(t))+P(t)x(1-MmP(t))
WRS1 = ((1 - P1) * (MM11_macho * P1 + MM12_macho * P2) + (P1 * ((1 - MM11_macho) * P1 + (1 - MM12_macho) * P2)))
WRS2 = ((1 - P2) * (MM21_macho * P1 + MM22_macho * P2) + (P2 * ((1 - MM21_macho) * P1 + (1 - MM22_macho) * P2)))

```

```

'calcular WRSXmf X (1-P(t)) X (MmP(t))+P(t)x(1-MmP(t))
WRS1 = wrsXmf11 * WRS1 + wrsXmf12 * WRS2
WRS2 = wrsXmf21 * WRS1 + wrsXmf22 * WRS2
'<=

'=>cálculo da matriz WSS
'calcular WSS x Mf
Dim wssXmf11 As Double
Dim wssXmf12 As Double
Dim wssXmf21 As Double
Dim wssXmf22 As Double

wssXmf11 = ASS11 * MM11_femea + ASS12 *
MM21_femea
wssXmf12 = ASS11 * MM12_femea + ASS12 *
MM22_femea
wssXmf21 = ASS21 * MM11_femea + ASS22 *
MM21_femea
wssXmf22 = ASS21 * MM12_femea + ASS22 *
MM22_femea

WSS1 = (1 - P1) * (MM11_macho * P1 + MM12_macho *
P2)
WSS2 = (1 - P2) * (MM21_macho * P1 + MM22_macho *
P2)

'calcular WRSXmf X (1-P(t)) X (1-MmP(t))
WSS1 = wssXmf11 * WSS1 + wssXmf12 * WSS2
WSS2 = wssXmf21 * WSS1 + wssXmf22 * WSS2
'<=

End Sub

Sub QUINTO_PASSO()

P1 = (WRR1 + WRS1 / 2) * (1 / (WRR1 + WRS1 + WSS1))
P2 = (WRR2 + WRS2 / 2) * (1 / (WRR2 + WRS2 + WSS2))

End Sub

Private Sub cmdProcessar_Click()

'=>se já foi processado uma vez, verifica se deve continuar o
processamento na mesma planilha, criar uma nova ou
cancelar a operação
If ja_existe = 1 Then
    JA_PROCESSADO
    If ja_existe = 2 Then Exit Sub
End If
'<=

'=>verifica se todos os campos foram preenchidos
corretamente
If VERIFICA_CAMPOS = False Then
    txtQ.SetFocus
    MsgBox "ATENÇÃO: Um ou mais campos não foram
preenchidos" & Chr(13) & "Favor preencher todos os
campos corretamente" & Chr(13) & "O processamento será
cancelado", vbExclamation, "FALTOU INFORMAÇÕES"
    Exit Sub
End If
'<=

Me.MousePointer = 11

CRIAR_DIRETORIO (App.Path & "\planilha")

'=>caso seja solicitado uma nova planilha, criar uma nova -
caso contrário, abre a planilha
If ja_existe = 0 Then
    CRIAR_EXCEL (True)
    CABECALHO_EXCEL
Else
    ABRIR_EXCEL App.Path & "\planilha\saida.xls", True
End If

'<=

'=>executa as rotinas do programa segundo o número de
passos
'zera a linha do excel se começar novamente
If ja_existe = 0 Then n = 1

'=>atribui os valores das caixas de texto para as variáveis
SETAR_VARIAVEIS
'<=

While n <= numero_vezes
    PRIMEIRO_PASSO
    SEGUNDO_PASSO
    TERCEIRO_PASSO
    QUARTO_PASSO
    QUINTO_PASSO

    ESCRIVE_DADOS_EXCEL

    n = n + 1
Wend
'<=

'=>fecha e salva o excel
FECHAR_EXCEL True, App.Path & "\planilha\saida.xls"
'<=

'=>indica que a planilha foi processada uma vez
ja_existe = 1
'<=

Me.MousePointer = 0

MsgBox "Processamento concluído", vbInformation, "OK"

End Sub

Private Sub cmdSair_Click()

End

End Sub

Private Sub Form_Activate()

'=>coloca o foco sempre na primeira caixa de texto
txtQ.SetFocus
'<=

End Sub

Private Sub Form_Load()

'=>zerar a variável
ja_existe = 0
'<=

'=>limpar as caixas de texto
LIMPACAMPOS
'<=

End Sub

Sub ESCRIVE_DADOS_EXCEL()

ESCREVE_LINHA_EXCEL "A", n + 1, Str(n)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "B", n + 1, Str(z1s_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "C", n + 1, Str(z2s_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "D", n + 1, Str(z1d_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "E", n + 1, Str(z2d_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "F", n + 1, Str(z1s_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "G", n + 1, Str(z2s_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "H", n + 1, Str(z1d_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "I", n + 1, Str(z1d_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "J", n + 1, Str(MM11_macho)

```

```

ESCREVE_LINHA_EXCEL "K", n + 1,
Str(MM12_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "L", n + 1, Str(MM21_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "M", n + 1,
Str(MM22_macho)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "N", n + 1, Str(MM11_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "O", n + 1, Str(MM12_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "P", n + 1, Str(MM21_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "Q", n + 1, Str(MM22_femea)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "R", n + 1, Str(ARR11)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "S", n + 1, Str(ARR12)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "T", n + 1, Str(ARR21)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "U", n + 1, Str(ARR22)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "V", n + 1, Str(ARS11)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "W", n + 1, Str(ARS12)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "X", n + 1, Str(ARS21)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "Y", n + 1, Str(ARS22)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "Z", n + 1, Str(ASS11)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AA", n + 1, Str(ASS12)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AB", n + 1, Str(ASS21)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AC", n + 1, Str(ASS22)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AD", n + 1, Str(WRR1)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AE", n + 1, Str(WRR2)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AF", n + 1, Str(WRS1)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AG", n + 1, Str(WRS2)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AH", n + 1, Str(WSS1)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AI", n + 1, Str(WSS2)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AJ", n + 1, Str(P1)
ESCREVE_LINHA_EXCEL "AK", n + 1, Str(P2)

```

End Sub

Sub CABECALHO_EXCEL()

```

FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "A1", "Loop", 10
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "B1", "z1s-macho",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "C1", "z2s-macho",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "D1", "z1d-macho",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "E1", "z2d-macho",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "F1", "z1s-femea",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "G1", "z2s-femea",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "H1", "z1d-femea",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "I1", "z2d-femea",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "J1", "MM11-
macho", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "K1", "MM12-
macho", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "L1", "MM21-
macho", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "M1", "MM22-
macho", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "N1", "MM11-
femea", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "O1", "MM12-
femea", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "P1", "MM21-
femea", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "Q1", "MM22-
femea", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "R1", "ARR11", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "S1", "ARR12", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "T1", "ARR21", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "U1", "ARR22", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "V1", "ARS11", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "W1", "ARS12", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "X1", "ARS21", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "Y1", "ARS22", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "Z1", "ASS11", 15

```

```

FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AA1", "ASS12",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AB1", "ASS21",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AC1", "ASS22",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AD1", "WRR1",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AE1", "WRR2",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AF1", "WRS1", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AG1", "WRS2",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AH1", "WSS1", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AI1", "WSS2", 15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AJ1", "P1(t+1)",
15
FORMATAR_CABECALHO_EXCEL "AK1", "P2(t+1)",
15

```

End Sub

Sub SETAR_VARIAVEIS()

```

Q = CDbI(txtQ.Text)
h = CDbI(txtH.Text)
r1m = CDbI(txtR1m.Text)
r1f = CDbI(txtR1f.Text)
r2m = CDbI(txtR2m.Text)
r2f = CDbI(txtR2f.Text)
k = CDbI(txtK.Text)
g = CDbI(txtG.Text)
L = CDbI(txtL.Text)

```

'pega só na primeira vez, depois só retroalimenta na último passo

```

If n = 1 Then
    P1 = CDbI(txtP1.Text)
    P2 = CDbI(txtP2.Text)
End If

```

```

x1 = CDbI(txtX1.Text)
x2 = CDbI(txtX2.Text)

```

numero_vezes = Val(txtNumero.Text)

End Sub

Function VERIFICA_CAMPOS() As Boolean

VERIFICA_CAMPOS = True

```

If Trim(txtQ.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtH.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtR1m.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtR1f.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtR2m.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtR2f.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

```

```

If Trim(txtk.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtg.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtl.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtP1.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtP2.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtX1.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtX2.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

If Trim(txtNumero.Text) = "" Then
    VERIFICA_CAMPOS = False
End If

End Function

Sub JA_PROCESSADO()

    vMsg = MsgBox("Já houve um processamento anterior"
    & Chr(13) & "Deseja continuar o processamento na mesma
    planilha?" & Chr(13) & "Caso clique em 'Não', será criada
    uma nova planilha e a antiga será sobrescrita",
    vbYesNoCancel, "DESEJA CONTINUAR?")

    If vMsg = vbCancel Then
        ja_existe = 2
    End If

    If vMsg = vbNo Then
        ja_existe = 0
    End If

End Sub

Sub LIMPACAMPOS()

    txtQ.Text = ""
    txth.Text = ""
    txtr1m.Text = ""
    txtr1f.Text = ""
    txtr2m.Text = ""
    txtr2f.Text = ""
    txtk.Text = ""
    txtg.Text = ""
    txtl.Text = ""

    txtP1.Text = ""
    txtP2.Text = ""
    txtX1.Text = ""
    txtX2.Text = ""

    txtNumero.Text = ""

End Sub

Private Sub txtg_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtk_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txth_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtr1f_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtr1m_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtr2f_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtr2m_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtl_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtP1_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtP2_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtNumero_KeyPress(KeyAscii As Integer)

If KeyAscii = 13 Then
    Call cmdProcessar_Click
    KeyAscii = 0
End If

End Sub

Private Sub txtX1_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

Private Sub txtX2_KeyPress(KeyAscii As Integer)

EVENTO_TAB (KeyAscii)

If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0

End Sub

```

```
Private Sub txtr2m_KeyPress(KeyAscii As Integer)
```

```
EVENTO_TAB (KeyAscii)
```

```
If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0
```

```
End Sub
```

```
Private Sub txtX1_KeyPress(KeyAscii As Integer)
```

```
EVENTO_TAB (KeyAscii)
```

```
If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0
```

```
End Sub
```

```
Private Sub txtX2_KeyPress(KeyAscii As Integer)
```

```
EVENTO_TAB (KeyAscii)
```

```
If KeyAscii = 13 Then KeyAscii = 0
```

```
End Sub
```