

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFESTAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* E *Helicoverpa
zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM HÍBRIDOS
COMERCIAIS DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Juliana Nais

Bióloga

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INFESTAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* E *Helicoverpa
zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM HÍBRIDOS
COMERCIAIS DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Juliana Nais

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli

Co-orientador: Dr. Marcos Doniseti Michelotto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola)

**JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro – 2012**

N158i Nais, Juliana
Infestação de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.) / Juliana Nais. – – Jaboticabal, 2012
vi, 70 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: Antonio Carlos Busoli
Banca examinadora: Aildson Pereira Duarte, Julio Cesar Guerreiro, Ricardo Antonio Polanczyk, Arlindo Leal Boiça Junior
Bibliografia

1. Controle. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. Lagarta-da-espiga. 4. OGM. 5. Transgenia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.786:633.15

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

JULIANA NAIS – Filha de Álvaro Antônio Nais e Maria Helena Jacintho Nais, nascida em Campinas - SP, no dia 8 de abril de 1979. Em 1998 ingressou na Universidade Estadual Paulista/UNESP – Campus de Rio Claro – Instituto de Biociências, onde foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no período de 1999 a 2001. Graduiu-se bióloga no ano de 2005. Nesse mesmo ano foi estagiária voluntária no Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, em Campinas, SP. Em março de 2006 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Entomologia Agrícola na Universidade Estadual Paulista/UNESP – Campus de Jaboticabal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, onde foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). O título de Mestre em Agronomia foi obtido no ano 2008. Em agosto de 2008 iniciou o curso de Doutorado em Agronomia – Área de Concentração em Entomologia Agrícola na Universidade Estadual Paulista/UNESP – Campus de Jaboticabal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, sendo bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e posteriormente do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“O homem que venceu na vida é aquele que viveu bem, riu muitas vezes e amou muito; que conquistou o respeito dos homens inteligentes e o amor das crianças, que preencheu um lugar e cumpriu uma missão; que deixa o mundo melhor do que encontrou, seja com uma flor, um poema perfeito ou o salvamento de uma alma; que procurou o melhor nos outros e deu o melhor de si.”

R. L. Stevenson

“Quando os acontecimentos escapam ao teu domínio, e te arrastam para onde não quererias ir, o resultado é surpreendente e enriquecedor. Forçada a desafios inesperados, vês brotarem de ti forças e capacidades que desconhecias; cresces por dentro; descobres luzes novas e uma nova dimensão de todas as coisas; aprendes que não estás só. É como se alguém te conduzisse a um lugar maravilhoso onde nunca saberias chegar com os teus pequenos projetos...”

Autor desconhecido

Aos meus pais Álvaro Antônio Nais e
Maria Helena Jacintho Nais e à minha irmã Renata Nais
que, com muito trabalho, simplicidade, amor
e dedicação contribuíram para que hoje
eu estivesse aqui ... por estarem
presentes intensamente
em todos os momentos
de minha vida!!

OFEREÇO

Ao mestre Dr. Antonio Carlos Busoli... com carinho!!

DEDICO

À DEUS... EM TODO TEMPO

AGRADEÇO!!!

AGRADECIMENTOS

Considerando que essa Tese não se iniciou numa data exata e que é resultado de uma caminhada longa que já tenho trilhado, agradecer pode não ser uma tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco de ser injusta, já agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje.

Agradeço mais uma vez à Deus, pela oportunidade de viver e estudar; o que seria de mim sem Ele!

Aos meus pais Álvaro Antônio e Maria Helena, meus alicerces fortes, agradeço pelo apoio incondicional em todo tempo e de tantas formas, sou o que sou em grande parte por eles... essa vitória é nossa!

Ao professor e querido amigo Dr. Antonio Carlos Busoli, pela orientação carinhosa, paciência, amizade e conversas durante esses anos de convivência e aprendizado.

Ao Dr. Marcos Doniseti Michelotto pela co-orientação, amizade e ajuda em momentos importantes.

Ao meu namorado Frederico Guilherme Guaraldo de Andrade pelo amor, paciência e apoio em todo tempo, e por não me deixar fraquejar no meio do caminho... por ser essa pessoa tão especial, presente nos momentos bons e ruins. Agradeço também ao grande carinho da sua família para comigo!

Às grandes amigas Ana Paula Fernandes e Patrícia Melhado Perez de Carvalho que, mesmo à distância, sempre me apoiaram em momentos de fragilidade.

Aos queridíssimos amigos de laboratório Leandro Aparecido Souza, Diego Felisbino Fraga, José Fernando Jurca Grigolli, Marina Funichello, Elias Almeida da Silva, Jacob Crossariol Netto e Diego Olympio Peixoto Lopes pela amizade, conversas animadas, imenso apoio e ajuda.

Aos demais amigos de curso Joseane de Souza Rodrigues, Marina Aparecida Viana, João Rafael De Conte Carvalho de Alencar, Laís da Conceição dos Santos, Miriam Maristela Kubota, pela amizade e conversas amenas durante esse tempo.

Aos técnicos José Altamiro de Souza e Alex Antônio Ribeiro pelos serviços prestados, boa vontade e conversas bem-humoradas.

À secretária Ligia Dias Tostes Fiorezzi sempre disposta a ajudar e à Lúcia Regina Tarina pelos cafezinhos deliciosos e papos amenos.

Ao casal Adriana Guirado Artur e Carlos Alberto Kenji Taniguchi pelo apoio em um dos momentos mais delicados que tive em 2011. Muito obrigada!!

Aos professores do Departamento de Fitossanidade pelos conhecimentos transmitidos e carinho nas explicações.

Ao pessoal da Aliança Bíblica Universitária, pelas reuniões tão gostosas às quartas-feiras.

Aos funcionários da Pós-graduação da FCAV/UNESP pela atenção.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudos concedidas.

O MEU MUITO OBRIGADA!!!

ORAÇÃO DO MILHO

Cora Coralina

Senhor, nada valho.
Sou a planta humilde dos quintais pequenos e das lavouras pobres.

Meu grão, perdido por acaso,
Nasce e cresce na terra descuidada.
Ponho folhas e haste e se me ajudardes, Senhor, mesmo planta
De acaso, solitária,
Dou espigas e devolvo em muitos grãos
O grão perdido inicial, salvo por milagre, que a terra fecundou.
Sou a planta primária da lavoura.
Não me pertence a hierarquia tradicional do trigo
E de mim não se faz o pão alvo universal.
O Justo não me consagrou Pão de Vida, nem lugar me foi dado nos altares.
Sou apenas o alimento forte e substancial dos que
Trabalham a terra, onde não vinga o trigo nobre.
Sou de origem obscura e de ascendência pobre,
Alimento de rústicos e animais do jugo.

Quando os deuses da Hélade corriam pelos bosques,
Coroados de rosas e de espigas,
Quando os hebreus iam em longas caravanas
Buscar na terra do Egito o trigo dos faraós,
Quando Rute respigava cantando nas searas do Booz
E Jesus abençoava os trigais maduros,
Eu era apenas o bró nativo das tabas ameríndias.
Fui o angu pesado e constante do escravo na exaustão do eito.
Sou a broa grosseira e modesta do pequeno sitiante.
Sou a farinha econômica do proletário.
Sou a polenta do imigrante e a miga dos que começam a vida em terra estranha.
Alimento de porcos e do triste mu de carga.
O que me planta não levanta comércio, nem vantagem dinheiro.
Sou apenas a fartura generosa e despreocupada dos paióis.
Sou o cocho abastecido donde ruma o gado.
Sou o canto festivo dos galos na glória do dia que amanhece.
Sou o cacarejo alegre das poedeiras à volta dos seus ninhos.
Sou a pobreza vegetal agradecida a Vós, Senhor,
Que me fizestes necessário e humilde.
Sou o milho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	iii
RESUMO	v
SUMMARY	vi
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Breve histórico da cultura do milho	03
2.2. Descrição e aspectos biológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)	05
2.3. Descrição e aspectos biológicos de <i>Helicoverpa zea</i> (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae)	07
2.4. Plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos	09
3. REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO 2 – DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO TRANSGÊNICOS E ISOGÊNICOS CONVENCIONAIS EM RELAÇÃO À INFESTAÇÃO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM TRÊS AMBIENTES	
RESUMO.....	23
1. Introdução.....	24
2. Material e Métodos	28
3. Resultados e Discussão	31
3.1. Experimento em Jaboticabal, SP	31
3.1.1. Milho safrinha - 2010	31
3.1.2. Milho safra - 2010/2011	34
3.2. Experimento em Pindorama, SP – Milho safra 2010/2011.....	39
4. Conclusões	44
5. Referências	45

CAPÍTULO 3 – DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO TRANSGÊNICOS E ISOGÊNICOS CONVENCIONAIS EM RELAÇÃO À INFESTAÇÃO DE *Helicoverpa zea* (BODDIE, 1850) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM TRÊS AMBIENTES

RESUMO.....	50
1. Introdução.....	51
2. Material e Métodos	54
3. Resultados e Discussão.....	56
3.1. Experimento em Jaboticabal, SP	56
3.1.1. Milho safrinha - 2010	56
3.1.1.1. Oviposição de <i>H. zea</i> nos híbridos de milho	56
3.1.1.2. Infestação de lagartas de <i>H. zea</i> e danos em híbridos de milho	57
3.1.2. Milho safra – 2010/2011	60
3.1.2.1. Oviposição de <i>H. zea</i> nos híbridos de milho	60
3.1.2.2. Infestação de lagartas de <i>H. zea</i> e danos em híbridos de milho	61
3.2. Experimento em Pindorama, SP – Milho safra 2010/2011	64
4. Conclusões	66
5. Referências	67
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Caracteres agronômicos dos híbridos convencionais e transgênicos de milho utilizados nos experimentos em campo. 2010/2011.....	29
Tabela 2. Escala de notas (0 a 9) para avaliação de danos de <i>S. frugiperda</i> nas plantas de milho (de acordo com FERNANDES et al. 2003, adaptada de DAVIS et al. 1992)	30
Tabela 3. Número médio de lagartas de <i>S. frugiperda</i> por planta em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010.....	33
Tabela 4. Médias das notas visuais de danos provocados por <i>S. frugiperda</i> em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010	33
Tabela 5. Número médio de lagartas de <i>S. frugiperda</i> por planta em híbridos convencionais e transgênicos em milho na safra. Jaboticabal- SP, 2010/2011..	36
Tabela 6. Médias das notas de danos visuais provocados por <i>S. frugiperda</i> em híbridos convencionais e transgênicos em milho na safra. Jaboticabal - SP, 2010/2011	37
Tabela 7. Número médio de lagartas de <i>S. frugiperda</i> por planta em híbridos convencionais e transgênicos em milho safra. Pindorama - SP, 2010/2011.....	41
Tabela 8. Médias das notas de danos visuais provocados por <i>S. frugiperda</i> em híbridos convencionais e transgênicos em milho safra. Pindorama - SP, 2010/2011	42

Tabela 9. Médias do número de ovos de <i>H. zea</i> por conjunto de estilo-estigma em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal – SP, 2010	57
Tabela 10. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos nos estilo-estigmas, área consumida (cm ²) e grãos consumidos/espiga por <i>H. zea</i> na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010	59
Tabela 11. Médias do número de ovos de <i>H. zea</i> /conjunto de estilo-estigma em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safra. Jaboticabal – SP, 2010/2011	61
Tabela 12. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos nos estilo-estigmas, área consumida (cm ²) e grãos consumidos/espiga por <i>H. zea</i> na safra. Jaboticabal - SP, 2010/2011	63
Tabela 13. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos nos estilo-estigmas, área consumida (cm ²) e grãos consumidos/espiga por <i>H. zea</i> na safra. Pindorama - SP, 2010/2011	65

INFESTAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* E *Helicoverpa zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM HÍBRIDOS COMERCIAIS DE MILHO (*Zea mays* L.)

RESUMO - O milho é uma das plantas domesticadas pelo homem mais antigas do mundo e sua produção se torna ameaçada diante do ataque de pragas. Dentre elas destacam-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* e a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea*. A *S. frugiperda* ataca preferencialmente o cartucho das plantas consumindo grande parte da área foliar antes de as folhas se desenvolverem. A *H. zea* é referida prejudicando a cultura atacando os estilo-estigmas e alimentando-se dos grãos leitosos. Para promover o manejo dessas pragas com a mínima utilização de agrotóxicos, a tecnologia das plantas geneticamente modificadas tem sido objeto de estudos. Neste trabalho, os objetivos foram avaliar a infestação de lagartas e injúrias de *S. frugiperda* e determinar o comportamento de oviposição, intensidade de infestação, danos nos estilo-estigmas e espigas provocados por *H. zea* em condições de campo, em híbridos convencionais e transgênicos. Os híbridos foram semeados na safrinha de 2010 e na safra de 2010/2011, em delineamento de blocos ao acaso, com sete tratamentos (híbridos) e quatro repetições. Diferentes níveis de infestação ocorreram durante os experimentos nos híbridos Bt e não Bt. O híbrido 2B710HX foi o menos infestado com lagartas de *S. frugiperda* e o menos danificado, o que se conclui que a expressão da toxina Cry1F foi a mais efetiva na proteção da planta, independente da época de semeadura. Os híbridos que expressam a toxina Cry1Ab e Cry1F foram os mais efetivos no controle da *H. zea* em Jaboticabal, independente da época de semeadura. Em Pindorama, SP, a toxina Cry1F apresentaram bons resultados contra a infestação de lagartas.

Palavras-Chave: controle, lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga, OGM, transgenia

INFESTATION OF *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN COMMERCIAL HYBRIDS OF MAIZE (*Zea mays* L.)

SUMMARY - The maize is a plant domesticated by humans world's oldest and your production becomes threatened before the attack of pests. Among the pest that attack maize stand out the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and the bollworm *Helicoverpa zea*. *S. frugiperda* attacks preferably the maize plants consuming much of the leaf area before the leaves develop. *H. zea* hurting the culture attacking style-stigma and destroying the mand. In order to promote the management of these pests with minimal use of pesticides, the technology of genetically modified plants has been the subject of many studies. In this paper, the objective was to evaluate the infestation and injuries of *S. frugiperda* and determine the oviposition behavior, intensity of infestation, damage to the style-stigma and in ear caused by *H. zea* in field conditions in conventional and transgenic maize hybrids. The hybrids were planted in the harvest in the summer of 2010 and in harvest 2010/2011, in a randomized blocks with seven treatments (hybrids) and four replications. Different levels of infestation of larvae occurred throughout the development of conventional and transgenic hybrids. The hybrid 2B710HX was the least infested with larvae of *S. frugiperda* and the least damaged, which concludes that the Cry1F toxin was the most effective in protecting the plant, regardless of time of sowing. The hybrids expressing the Cry11Ab and Cry1F toxin were most effective in controlling *H. zea* in Jaboticabal, SP, regardless of sowing time. In Pindorama, SP, toxin Cry1F showed good results against the infestation of caterpillars.

Key-words: control, fall armyworm, bollworm, GMO, transgenics

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o milho tem sido cultivado em aproximadamente 14 milhões de hectares, com produção de 57,5 milhões de toneladas por ano (CONAB, 2011). É um produto agrícola de grande utilização, na alimentação (animal e humana) e como matéria-prima de expressiva importância para o uso industrial (LIMA et al. 2009).

A produção de alimentos se torna ameaçada diante do ataque de pragas, e dentre elas destacam-se os insetos, que representam o maior grupo de organismos vivos do nosso planeta. Na cultura do milho, essa entomofauna é bastante diversificada, porém poucas espécies atingem o status de praga. Nesse quesito incluem-se as espécies *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), conhecida vulgarmente como lagarta-do-cartucho e a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850), ambas lepidópteros da família Noctuidae.

A espécie *S. frugiperda*, na fase larval, ataca a planta desde sua emergência até a formação de espigas (CRUZ et al. 1999). Quando essa praga ataca plantas de até 30 dias, pode causar sua morte e reduzir o estande inicial e, em plantas maiores, pode comprometer a produtividade ao alimentar-se do parênquima das folhas, do broto central da planta (cartucho-do-milho) e dos grãos da espiga (CRUZ & TURPIN, 1982; CRUZ et al. 1999). Apesar dos avanços da pesquisa, *S. frugiperda* ainda é a praga que mais danifica a cultura do milho, não só no Brasil, mas em toda a América (WISEMAN et al. 1996; CRUZ, 1995; CRUZ et al. 1999; CARVALHO et al. 2010).

A outra espécie, *H. zea*, prejudica a produção atacando os estilo-estigmas quando ainda no 1º e 2º estádios larvais, impedindo a fertilização e ocasionando falhas de granação nas espigas. As lagartas mais desenvolvidas alimentam-se dos grãos leitosos, destruindo-os e facilitando a penetração de microrganismos e pragas de grãos armazenados nas espigas através dos orifícios deixados (CARVALHO, 1980; GALLO et al. 2002).

O controle das pragas-chave no campo tem sido realizado principalmente com o uso de agrotóxicos, que além de afetar o meio ambiente, também podem promover o desenvolvimento da resistência de populações de insetos a tais produtos (LIMA et al. 2006). No intuito de promover o controle dessas pragas com a mínima utilização de agrotóxicos, a tecnologia dos organismos geneticamente modificados resistentes a insetos tem sido alvo de muitos estudos.

Para o desenvolvimento das plantas geneticamente modificadas, através de técnicas de laboratório, um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) foi introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo alto padrão de resistência da planta a algumas espécies de lepidópteros-praga (ARMSTRONG et al. 1995).

Em bioensaios, tem sido demonstrada a especificidade das toxinas puras para as diferentes espécies de insetos (MACINTOSH et al. 1990). Especificamente para as principais espécies de lepidópteros-praga do milho, foram registradas as seguintes toxinas com maior atividade: Cry1D e Cry1F para o controle de *S. frugiperda*, Cry1Ac para *Helicoverpa zea*, Cry1B para *Diatraea saccharalis* e *D. grandiosella* (BOHOROVA et al. 1997) e Cry1C para *S. exigua* (VISSER et al. 1990). Em *Ostrinia nubilalis*, a atividade dessas toxinas pode variar de 2 a 7 vezes em função da origem geográfica da população submetida à análise (MARÇON et al. 1999; WAQUIL et al. 2004).

No Brasil, a autorização do cultivo de híbridos de milho geneticamente modificados ocorreu recentemente pela CTNBio. As primeiras sementes foram comercializadas em 2008 e ainda são poucas as informações a respeito do desempenho dessa tecnologia no campo, necessitando de estudos em várias regiões e condições de campo, para comprovar a sua eficiência no controle das lagartas *S. frugiperda* e *H. zea*. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a infestação de lagartas de *S. frugiperda* e *H. zea* em híbridos de milho convencionais e transgênicos, em locais e épocas de semeadura diferentes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Breve histórico da cultura do milho

Existem diversas teorias quanto à origem do milho, porém a mais aceita é que tenha se originado diretamente do seu ancestral, o teosinto. Vários pesquisadores do assunto concordam com a hipótese, e interpretam as diferenças entre o milho e o teosinto como de origens agronômicas, sendo que a maior diferença entre eles está na arquitetura de sua inflorescência. Existem evidências genéticas e citológicas de que o milho e o teosinto são extremamente aparentados. Ambos possuem 20 cromossomos, os quais são homólogos, e cruzam facilmente, resultando em indivíduos férteis (PAABO, 1999; PATERNIANI & CAMPOS, 1999; WANG et al. 1999; TERRA, 2004).

O milho é uma espécie diplóide e alógama, pertencente à família Poaceae (Gramineae), tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays*, originado aproximadamente de sete a dez mil anos atrás no México e na América Central. É considerado uma das plantas cultivadas mais antigas e um dos vegetais superiores mais estudados, possuindo caracterização genética mais detalhada dentre as espécies cultivadas (GUIMARÃES, 2007) e a “planta da civilização” por excelência da América (CARNEIRO, 2003; MACHADO, 2011). Provavelmente, por ocasião do descobrimento da América, Cristóvão Colombo tenha conhecido o milho e levado sementes desse cereal para a Espanha. A partir daí tornou-se parte integrante da dieta dos mais variados povos, o que incrementou a sua importância econômica (SILOTO, 2002).

Por ser uma boa fonte de carboidratos, proteínas e óleo, com uma ampla distribuição geográfica, o milho não somente é utilizado de forma direta na dieta humana e de animais, como também tem valor industrial para produção de bebidas, medicamentos, tintas, plásticos, explosivos, etc. Assim, o milho é considerado como uma importante cultura para as necessidades atuais da sociedade moderna. A demanda de consumo e de mercado do milho vem sofrendo contínuo aumento, tanto em níveis nacionais como mundiais. A própria elevação do consumo de derivados de aves e suínos exige indiretamente aumento na disponibilidade de milho, devido à sua

incorporação nas rações animais (LOGUERCIO et al. 2002). Pela sua versatilidade de uso, pelos desdobramentos de produção animal e pelo aspecto social, o milho é um dos mais importantes produtos do setor agrícola no Brasil (DUARTE, 2011).

A planta possui ampla variabilidade genética, sendo identificadas atualmente cerca de 300 raças e, dentro de cada raça, inúmeras variedades (PATERNIANI et al. 2000; SILOTO, 2002). Nos E.U.A. e no México diversas variedades de milho têm sido identificadas como portadores de genes para resistência à *S. frugiperda* (SILVEIRA et al. 1997). De acordo com VIDELA et al. (1992), estes materiais foram testados em vários ensaios internacionais, em condições de campo, identificando-se sua capacidade de diminuir o peso e a viabilidade de lagartas de *S. frugiperda*. Vários estudos têm sido realizados em laboratório com o objetivo de se detectar resistência do tipo antibiose, principal fator de redução da população de pragas (LARA, 1991), avaliando-se o desenvolvimento de *S. frugiperda* em diferentes acessos de milho. A mortalidade das formas jovens criadas sobre plantas resistentes geralmente é observada durante os primeiros dias de vida do inseto. Para LARA (1991), é uma das variáveis mais características da ocorrência de antibiose, aliada à redução do tamanho e peso dos indivíduos. Segundo LIMA et al. (2006), os acessos AM 013 e RO 009 e MA 002, são os mais resistentes à lagarta-do-cartucho.

Buscando um controle mais eficiente, não poluente e específico à *S. frugiperda*, iniciou-se os estudos utilizando *Bacillus thuringiensis*, que atualmente no Brasil e em outros países tem demonstrado o potencial desse controle biológico. O *B. thuringiensis* apresenta atividade de controle específica às diversas ordens de insetos e a alguns nematóides. Sua ação é devido a produção de proteínas Cry ou delta-endotoxinas codificadas pelos genes *cry*. Uma variedade desta bactéria pode conter desde uma até várias cópias de um mesmo ou de diferentes genes *cry*, onde as diferentes combinações de genes caracterizam perfis de toxicidade distintos, devido à contribuição de cada um deles para diferentes níveis de toxicidade. A patogenicidade e a especificidade de uma linhagem é determinada pelos tipos de genes *cry* funcionais que as mesmas possuem. Devido a sua alta especificidade, seu uso não causa danos aos organismos não alvos e nem à fauna, em geral (ESCUDEIRO, 2006).

Diferentes toxinas se ligam a diferentes receptores em diversas espécies de insetos e com intensidade variada, o que explica a especificidade das mesmas. Algumas das proteínas Cry apresentam toxicidade a mais de uma ordem de insetos, como por exemplo, a Cry1Ba contra lepidópteros e coleópteros (PRAÇA et al. 2004). Além das toxinas cristais, várias cepas também produzem outras endotoxinas, como as Cyt (PEREZ et al. 2005), Vip (SELVAPANDIYAN et al. 2001) e Parasporina (KITADA et al. 2006; BERGAMASCO et al. 2009).

2.2. Descrição e aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

As espécies do gênero *Spodoptera* são amplamente distribuídas no mundo, e das 30 espécies descritas, por volta de 15 são consideradas pragas de variadas culturas de importância econômica (POGUE, 2002). Dentre elas, *S. frugiperda* destaca-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro, milho e soja (POGUE, 2002; CAPINERA, 2008), além de utilizar hospedeiros alternativos para se manter nos agroecossistemas (BARROS et al. 2010).

O primeiro grande surto registrado de *S. frugiperda* na história ocorreu em 1899, quando uma grande parte dos E.U.A. foi invadida pela espécie, causando severos danos em milho, feijão, arroz, sorgo e trigo. Mais tarde esta praga foi encontrada causando ataques intensos em aveia, algodoeiro e pastagens. No Brasil, um surto que chamou a atenção foi relatado em 1964, com enormes danos em milho, arroz e pastagens (CRUZ, 1995).

A mariposa mede de 35 a 40 mm de envergadura e o comprimento do corpo é de aproximadamente 15 mm, de coloração pardo-escura nas asas anteriores e branco acinzentada nas posteriores, podendo apresentar longevidade em torno de 12 dias. As asas anteriores do macho possuem manchas mais claras, diferenciando-o da fêmea. No milho, este inseto faz a postura em massa na face adaxial das folhas, em grupos de 50 a 300 ovos, podendo alcançar 1500 a 2000 ovos por fêmea (ALVES et al. 1992; CRUZ et al. 1995; GALLO et al. 2002).

As lagartas recém-eclodidas são esbranquiçadas, possuem cápsula cefálica escura e mais larga do que o corpo e apresentam mais cerdas que as mais velhas. No primeiro ínstar as lagartas medem 1,9 mm de comprimento, com cápsula cefálica medindo 0,3 mm de largura. Já as larvas de último ínstar têm o corpo cilíndrico, de coloração marrom-acinzentada no dorso, esverdeada na parte ventral e subventral, que também apresenta manchas de coloração marrom-avermelhada (GALLO et al. 2002).

O comprimento do corpo de uma lagarta de quinto ínstar pode chegar a 50 mm e a largura da cápsula cefálica varia de 2,7 a 2,78 mm. A duração da fase larval é de 12 a 30 dias. Findo o período larval, as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas. Inicialmente a pupa é de coloração verde-clara com o tegumento transparente. Nesta fase o corpo é frágil e sensível a injúrias. Depois de alguns minutos a pupa torna-se alaranjada, passando à coloração marrom-avermelhada e próximo à emergência a pupa torna-se escura, quase preta. Seu comprimento atinge de 13 a 16 mm por 4,5 mm de diâmetro (CRUZ, 1995). O período pupal é de 8 dias no verão, podendo chegar a 25 dias no inverno, após o qual ocorre a emergência dos adultos (GALLO et al. 2002).

No milho, as lagartas de primeiro ínstar iniciam sua alimentação raspando uma das faces da folha, deixando a epiderme do outro lado intacta. Larvas maiores começam a fazer furos na folha e quando passam para o quarto e quinto ínstares, podem destruir completamente as folhas ainda novas que compõem o cartucho da planta, daí surgir o seu nome comum (CRUZ, 1995).

A lagarta-do-cartucho é a principal praga da cultura do milho, por sua ocorrência generalizada e por atacar todos os estágios de desenvolvimento da planta. A redução no rendimento de grãos devido ao ataque dessa praga varia de 17,7 a 55,6%, de acordo com o estágio de desenvolvimento e da suscetibilidade dos genótipos de milho (CRUZ, 2008). No entanto, essa praga pode reduzir, através da destruição das folhas, a produção de milho em até 20% (GALLO et al. 2002).

No Brasil, um dos fatores que pode estar contribuindo para a dificuldade do manejo de *S. frugiperda* é a grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, seja com sucessão de culturas, como milho ou soja no verão, ou milho ou sorgo na “safrinha”. Além disso, nas regiões do Brasil onde é utilizada alta tecnologia, como na Alta

Mogiana (Guaíra, Orlandia, São Joaquim da Barra) no Estado de São Paulo, na região de Itumbiara e Rio Verde em Goiás, o plantio de milho irrigado com pivô central no inverno aumenta a disponibilidade de hospedeiros nesse período. Em regiões com precipitação no inverno, como no Paraná, Santa Catarina e no Rio Grande do Sul no Sul, e regiões do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, onde as chuvas se prolongam até maio, esta espécie tem inúmeras gerações através dos cultivos de verão de milho, soja e algodoeiro, assim como nos cultivos de “safrinha” de milho e algodoeiro.

2.3. Descrição e aspectos biológicos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae)

A lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* é também uma das pragas de maior importância econômica para a agricultura mundial. É considerada uma das mais importantes pragas do milho nos Estados Unidos, causando mais danos que qualquer outro inseto, especialmente quando o ataque ocorre em milho doce destinado à indústria (CRUZ, 2008).

No Brasil, CARVALHO (1980) constatou que as infestações de *H. zea* são de até 96,3% das espigas, causando danos de até 8,4%, com 2,1% em consequência de grãos consumidos, 2,0% de grãos podres e 4,3% de falhas na granação das espigas. Seu controle é difícil pois suas lagartas eclodem dos ovos e penetram nas espigas pelo conjunto de estilo-estigmas. Na maioria dos casos, as perdas causadas pelo seu ataque nas espigas são inevitáveis devido a baixa eficiência de medidas de controle, tornando esta prática antieconômica (RUMMEL et al. 1986). Em milho doce, o nível de dano econômico aceitável é mínimo, já que a qualidade visual do produto é primordial, e os produtores chegam a aplicar inseticidas a intervalos de 24 ou 48 horas, até os estilo-estigmas estarem todos secos (PITRE et al. 1979; MATRANGOLO et al. 1998).

No Brasil, a importância da praga para a cultura do milho pode ser verificada com incidência média relatada de até 96% de infestação nas espigas. Além do dano direto da praga consumindo os grãos em formação, os danos indiretos também são significativos e incluem a falta de formação de segundas espigas, ausência de

fertilização de grande parte dos óvulos das espigas tardias, bem como a falha de grãos na extremidade livre das espigas (CRUZ, 2008).

O adulto da lagarta-da-espiga é uma mariposa com cerca de 40 mm de envergadura, com as asas anteriores de coloração amarelo-parda, com uma faixa transversal mais escura, apresentando também manchas escuras dispersas sobre as asas. As asas posteriores são mais claras, com uma faixa nas bordas externas. A fêmea oviposita em qualquer parte da planta, mas sua preferência é pelos estilo-estigmas ainda verdes na espiga. Os ovos geralmente são depositados individualmente, podendo chegar até 15 por conjunto de estilo-estigma. Medem por volta de 1 mm de diâmetro, possuem forma hemisférica, com saliências laterais, e podem ser facilmente visualizados sobre os estilo-estigmas. Cada fêmea oviposita em média 1.000 ovos durante sua fase adulta (GALLO et al. 2002).

Durante o verão, num período de três a quatro dias, dá-se a eclosão das lagartas, que começam a alimentar-se imediatamente dos estilo-estigmas. À medida que se desenvolvem, penetram no interior da espiga e iniciam a destruição dos grãos ainda em formação. A lagarta completamente desenvolvida mede cerca de 35 mm e possui coloração muito variável. Predomina a coloração entre verde-clara, rosa, marrom ou quase preta, com partes mais claras. O período larval varia de 13 a 25 dias, dependendo da temperatura. Findo o período larval, as lagartas saem da espiga e vão para o solo, onde se transformam em crisálidas durante a fase de pupa. O período pupal dura 10 a 15 dias (CRUZ, 2009).

A lagarta de *H. zea* é referida prejudicando a cultura de três formas: atacando os estilo-estigmas, impedindo a fertilização e, como conseqüência, surgirão falhas na produção de grãos do ponteiro das espigas. Desenvolvidas, alimentam-se de grãos leitosos, destruindo-os e, finalmente, os orifícios deixados pela saída das lagartas das espigas, por ocasião da empupação no solo, facilitam a penetração de microrganismos que podem causar podridões (GASSEN, 1996).

H. zea é uma espécie polífaga, incluindo como hospedeiros além do milho, outras gramíneas, solanáceas, leguminosas, frutíferas e hortaliças, o que dificulta a implantação de um programa de manejo integrado do inseto (GIOLO et al. 2006).

O controle de *H. zea* se faz quase que exclusivamente mediante emprego de inseticidas, sendo esse método antieconômico e de muito baixa eficiência. Isto se deve ao fato das lagartas encontrarem-se protegidas no interior das espigas. Além disso, provoca um efeito negativo no equilíbrio biológico existente entre o inseto-praga e seus inimigos naturais, e o mau uso dos agrotóxicos acaba também por forçar a seleção de populações mais resistentes (CRUZ, 2002).

2.4. Plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos

A biotecnologia foi primeiramente usada pelos antigos egípcios, cerca de 2.000 a.C. com o desenvolvimento das técnicas de fermentação. Posteriormente Gregor Mendel, conhecido já no século XIX como o “pai da Genética”, descreveu os caracteres da hereditariedade, conhecidos atualmente como genes. Somente em 1944, os doutores Avry MacLeod e McCarty identificaram o DNA como material genético. Porém, o grande marco da biologia molecular ocorreu quase 10 anos depois, com a elucidação da estrutura helicoidal do DNA em 1953 por Watson e Crick. Atualmente, quase meio século de estudos sobre o DNA, surgiram as primeiras aplicações comerciais dessa descoberta. Os primeiros produtos resultantes de modificação genética foram os de aplicação farmacêutica, tal como a insulina humana no início dos anos 80. Entretanto, a primeira liberação de um Organismo Geneticamente Modificado (OGM) no ambiente ocorreu em 1986 na Inglaterra (ODA & SOARES, 2001).

Na agricultura, a busca por métodos alternativos de controle de insetos-praga tem sido realizada com afincos por vários laboratórios ao redor do mundo e são plantadas várias espécies agrícolas geneticamente modificadas, dentre elas soja, milho, canola, batata e algodão. Cultivares geneticamente modificadas de milho e soja vem sendo utilizadas em maior escala na América do Norte e China, incluindo modificações que conferem tolerância a herbicidas, resistência a insetos ou ambas as características.

Atualmente, a produção de transgênicos está difundida em praticamente todas as regiões agrícolas do planeta, e a adoção da biotecnologia pelos produtores atinge níveis nunca alcançados por outras tecnologias avançadas, em toda história da

agricultura. Em 2010, culturas modificadas geneticamente foram semeadas por mais de 16,7 milhões de agricultores, em 160 milhões de hectares, distribuídos em 29 países (JAMES, 2011). O Brasil ocupa o segundo lugar entre os países com maior área cultivada com transgênicos no mundo, cerca de 30,3 milhões de hectares, atrás apenas dos Estados Unidos com 69,0 milhões de hectares (ISAAA, 2011). A razão desse indiscutível sucesso são os benefícios obtidos com a produção de plantas transgênicas resistentes a doenças e insetos, a redução no uso de defensivos, o aumento da produção (CARRER et al. 2010) e facilidade para o agricultor.

Os inseticidas biológicos, utilizados há mais de 50 anos no Brasil, são uma alternativa para o controle mais seletivo de insetos nocivos. Esta prática inclui, principalmente, o emprego de microrganismos. Mais recentemente, plantas transgênicas resistentes a insetos, desenvolvidas pela integração, nos seus genomas, dos genes de resistência provenientes desses microrganismos, constituem-se em mais uma alternativa com grande potencial de proteção contra as perdas causadas por insetos-praga (SCHULER et al.1998; HILDER & BOULTER, 1999; BETZ et al. 2000; BOBROWSKI et al. 2003).

Dentre esses microrganismos encontra-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) que é a mais utilizada (GATEHOUSE, 1991). O *B. thuringiensis* foi descrito pela primeira vez por Berliner em 1911 quando esse pesquisador isolou o bacilo de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). Posteriormente, Berliner nomeou *B. thuringiensis* em homenagem à província de Thuringia (Alemanha), onde o primeiro inseto infectado foi encontrado. Porém, o primeiro isolamento foi realizado anteriormente em 1901, quando o biólogo S. Ishiwata isolou a bactéria que era o agente causal da “sotto-disease” (GLARE & O’CALLAGHAM, 2000; POLANCZYK & ALVES, 2003). O cristal protéico, também chamado de delta-endotoxina, possui propriedades inseticidas específicas. Este cristal proteico é responsável por 20-30% da proteína total da célula (BOUCIAS & PENDLAND, 1998) e pode ter várias formas, tais como: bipiramidal, esférico, retangular, cubóide e irregular. Os cristais bipiramidais apresentam uma maior frequência de toxicidade do que os outros tipos e a maioria dos isolados que

possuem alguma atividade contra os lepidópteros possuem este tipo de cristal (TYRELL et al. 1981).

Esses cristais ou proteínas são denominadas de Cry (YAMAMOTO & DEAN, 2000) e são codificadas por genes *cry* e sua toxicidade está ligada à região N-terminal das cadeias polipeptídicas, enquanto a porção C-terminal determina a estrutura do cristal (LI et al. 1991; POLANCZYK & ALVES, 2003). Atualmente, há registro de mais de 500 holótipos de genes *cry* seqüenciados (http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/).

Os cristais de *B. thuringiensis*, ao serem ingeridos pelas larvas dos insetos suscetíveis, sofrem ação do pH intestinal e de proteases, que solubilizam o cristal. Então, há a aderência da toxina Cry aos receptores do intestino médio e a sua inserção dentro da membrana apical criando canais de íons ou poros (CARNEIRO et al. 2009). Estas, por sua vez, se ligam a receptores localizados no tecido epitelial do intestino da larva, ocasionando a quebra do equilíbrio osmótico da célula, que se intumescce e rompe, propiciando o extravasamento do conteúdo intestinal para a hemocele do inseto. Em consequência, a larva para de se alimentar, entra em paralisia geral e morre por inanição causada pela infecção geral também chamada de septicemia. Não há atividade de *B. thuringiensis* nas fases de pupa e de adulto dos insetos (MONNERAT & BRAVO, 2000; PRAÇA et al. 2004).

O crescimento mais significativo de plantas geneticamente modificadas ocorreu nas culturas do milho e de algodoeiro. Para a produção do milho transgênico há três requisitos básicos: (i) regeneração *in vitro* do tecido vegetal que será transformado; (ii) a metodologia para a inserção do gene *cry* no genoma do milho e (iii) a construção gênica, com genes *cry* e marcadores de seleção. Os diferentes métodos de transformação genética de milho podem ser métodos indiretos e métodos diretos. A transformação genética através do método indireto utiliza uma bactéria, a *Agrobacterium tumefaciens*, para introduzir o gene de interesse (GDI) no genoma do milho. Já na transformação através de métodos diretos, o GDI é introduzido no genoma sem a intervenção de uma bactéria. O método direto mais usado para a produção de milho geneticamente modificado é o bombardeamento das células de milho com

micropartículas metálicas (CARNEIRO et al. 2009). O desenvolvimento de híbridos de milho comerciais que expressem as toxinas de *B. thuringiensis* aparece como uma alternativa ao controle de insetos-praga, visto que trazem um enorme potencial de emprego no MIP dessa e de outras culturas.

As principais vantagens do uso do milho geneticamente modificado são: redução na aplicação de inseticidas, principalmente inseticidas de largo espectro e aumento na produtividade das plantas (HUANG et al. 2002); maior proteção de grãos armazenados contra insetos-praga (GILES et al. 2000) e menores níveis de micotoxinas devido à redução no dano causado pelas pragas (DOWD, 2000; MUNKVOLD et al. 1999; FRIZZAS, 2003).

3. REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, C. L.; PARKER, G. B.; PERSHING, J. C.; BROWN, S. M.; SANDERS, P. R.; DUNCAN, D. R.; STONE, T.; DEAN, D. A.; DEBOER, D. L.; HART, J.; HOWE, A. R.; MORRISH, F. M.; PAJEAU, M. E.; PETERSEN, W. L.; REICH, B. J.; RODRIGUEZ, R.; SANTINO, C. G.; SATO, S. J.; SCHULER, W.; SIMS, S. R.; STEHLING, S.; TAROCHIONE, L. J.; FROMM, M. E. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 2, p. 550-557, 1995.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 996-1001, 2010.

BERGAMASCO, V.B.; CORDEIRO, J. X.; GONÇALVES, J. F.; POLANCZYK, R. A.; SENA, J. A. D.; LEMOS, M. V. F. Variabilidade genética e análise de genes *cry1* em isolados de *Bacillus thuringiensis* nocivos à *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madri, v. 35, p. 329-341, 2009.

BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* - protected plants to control insect pests. **Regulatory, Toxicology and Pharmacology**, San Diego, v. 32, p. 156-173, 2000.

BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; ZANETTINI-BODANESE, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 843-850, 2003.

BOUCIAS, D. G.; PEDLAND, J. C. **Principles of insect pathology**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 537 p.

BOHOROVA, N.; CABRERA, M.; ABARCA, C.; QUINTERO, R.; MACIEL, A. M.; BRITO, R. M.; HOISINGTON, D.; BRAVO, A. Susceptibility of four tropical Lepidopteran maize pests to *Bacillus thuringiensis* Cry I-type insecticidal toxins. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 90, n. 2. p. 412-415, 1997.

CAPINERA, J. L. **Encyclopedia of entomology**. 2. ed. Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2008. v. 1-4, 4346 p.

CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; VALICENTE, F. H.; WAQUIL, J. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, M. P.; MENDES, S. M. **Milho Bt**: Teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga. Sete Lagoas: Embrapa - CNPMS, n.135, 2009. Circular Técnica.

CARNEIRO, H. **Comida e Sociedade**: uma história da Alimentação. Rio de Janeiro: Campus, 2003. 185 p.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, 2010.

CARVALHO, E. V.; GONÇALVES, A. H.; AFFÉRI, F. S.; DOTT, M. A.; PELUZIO, J. M. Influência da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith), sobre híbridos de milho, no sul do Tocantins. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 152-157, 2010.

CARVALHO, R. P. L. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção de milho no Brasil**. Piracicaba: Fundação Cargill, 1980. p. 505-570.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos. Décimo segundo levantamento. Brasília, 2011. 41 p.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa – CNPMS, n. 21, 1995. 45 p. Circular Técnica.

CRUZ, I. Resistência de *Spodoptera* a inseticidas. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 37, p.12-14, 2002.

CRUZ, I. . Manejo de pragas da cultura do milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A.; MAGALHÃES, P. C. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2008. cap. 12, 1.ed, p. 302-362.

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: SIMPÓSIO GRANDES CULTURAS: MILHO, 2, 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2009. Capítulo 12.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. de. L. C.; MATOSO, M. J. **Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma***. Sete Lagoas: Embrapa- CNPMS, n. 30, 1999. 40p. Circular Técnica.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p.355-60, 1982.

CRUZ, I.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; VALICENTE, F. H. Pragas: diagnóstico e controle. In: COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. **Seja o doutor do seu milho**. 2. ed. ampl. modif. Piracicaba: POTAFOS, 1995. p. 10-14.

DOWD, P. F. Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 6, p.1669-1679, 2000.

DUARTE, J. O. **Importância econômica** – introdução e importância econômica do milho. Embrapa Milho e Sorgo, Sistema de Produção 1. Disponível:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/importancia.htm>>. Acesso em: 09/dez. 2011.

ESCUADERO, I. R., ESTELA, A., PORCAR, M., MARTÍNEZ, C., OGUIZA, J. A., ESCRICHE, B., FERRÉ, J., CABALLERO, P. Molecular and Insecticidal Characterization of a Cry1I Protein Toxic to Insects of the Families Noctuidae, Tortricidae, Plutellidae, and Chrysomelidae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 7, p. 4796–4804, 2006.

FRIZZAS, M. R. **Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a comunidade de insetos**. 2003. 206 f. Tese (Doutorado em Ciências - Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Entomologia agrícola**. 10 ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GASSEN, D. N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 134 p.

GATEHOUSE, J. A. Breeding for resistance to insects. In: MURRAY, D. R. (Ed.). **Advanced methods in plant breeding and biotechnology**. Wallingford: CAB, 1991. cap.10, p.250-276.

GILES, K. L.; HELLMICH, R. L.; IVERSON, C. T.; LEWIS, L. C. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize grain on *B. thuringiensis*-susceptible *Plodia interpunctella*

(Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 3, p.1011-1016, 2000.

GIOLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; MANZONI, C. G.; BERNARDI, O.; ZART, M. Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 167-171, 2006.

GLARE, T. R.; O' CALLAGHAM, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley, 2000. 350 p.

GUIMARÃES, P. S. **Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais**. 2007. 132 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, SP, 2007.

HILDER, V. A.; BOULTER, D. Genetic engeneering of crop plants for insect resistance - a critical review. **Crop Protection**, Oxford, v. 18, p.177-191, 1999.

HUANG, J. ROZELLE, S.; PRAY, C.; WANG, Q. Plant biotechnology in China. **Science**, New York, v. 295, p. 674-677, 2002.

ISAAA, 2011. **International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applicatons**. Disponível em: <<http://www.isaaa.org>>. Acesso em: 12/mar.2012.

JAMES, C. Global status of commercialized Biotech/GM crops. The First Fourteen Years, 1996 to 2009. In: INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRI-BIOTECH APPLICATIONS. Ithaca, New York, 2011.

KITADA, S.; ABE, Y.; SHIMADA, H. Cytocidal actions of parasporin-2, an anti-tumor crystal toxin from *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, Maryland, v. 281, p. 26350–26360, 2006.

LARA, F.M. 1991. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. Editora Ícone, São Paulo, 2a. ed., 336 pp.

LI, L.; CARREL, J.; ELLAR, D. J. Cristal structure of insecticide delta-endotoxina from *Bacillus thuringiensis* at 2,5 Å resolution. **Nature**, London, v. 353, n. 7, p.815-821, 1991.

LIMA, M. P. L.; OHASHI, O. S.; SOUZA, F. R. S.; GOMES, F. S. Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 147-150, 2006.

LIMA, M. P. L.; OLIVEIRA, J. V.; MARQUES, E. J. Manejo da lagarta-do-cartucho em milho com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1227-1230, 2009.

LOGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A. A. **Milho Bt**. Sete Lagoas: Embrapa, n. 24, 2002. Circular Técnica.

MACHADO, J. L. A. **Milho: cidadão americano, cidadão do mundo**. Disponível em: <www.planetaeducacao.com.br>. Acesso em 2/dez. 2011.

MACINTOSH, T. B.; STONE, S. R.; HUNST, P. L.; GREENPLATE, J. T.; MARRONE, P. G.; PERLAK, F. J.; FISCHHOFF, D. A.; FUCHS, R. L. Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 56, p. 258-266, 1990.

MARÇON, P. C. R. G.; YONG, L. J.; STEFFELY, K. L.; SIEGFRIED, B. D. Baseline susceptibility of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 92, n. 2, p. 279-285, 1999.

MATRANGOLO, W. J. R.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Densidade populacional de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera:Noctuidae) nas fases de ovo, larva e adulto em milho. **Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 21-28, 1998.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 2000. v. 3, p.163-200.

MUNKVOLD, G. P.; HELLMICH, R. L.; RICE, L. G. Comparison of fumonisin concentrations in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. **Plant Disease**, Saint Paul, Minn. v. 83, p.130-138, 1999.

ODA, L. M.; SOARES, B. E. C. **Biotecnologia no Brasil**. Aceitabilidade pública e desenvolvimento Econômico - Biotecnologia e Transgênicos. Brasília: Parcerias Estratégicas, n. 10, 2001.

PAABO, S. Neolithic genetic engineering. **Nature**, London, v. 398, n. 6724, p. 194-195. 1999.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento de milho. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. 817p.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil – uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C. V.; DUARTE, W. **Uma história brasileira do milho**: o valor dos recursos genéticos. Brasília: Ed. Paralelo 15, 2000. p. 11-41.

PEREZ, C., FERNANDEZ, L. E., SUN, J., FOLCH, J.L., GILL, S. S., SOBERON, M., BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis* Cyt1Aa synergizes Cry11Aa toxin by functioning as a membrane bound receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 18303–18308, 2005.

PITRE, H. N.; MISTREIC, W. J.; LINCOLN, C. G. Economic thresholds: Concepts and techniques. In: STERLING, W. L. **Economic threshold and sampling of *Heliothis* species on cotton, corn, soybeans and other host plants**. Texas: Texas A & M University, Department of Agricultural Communications, 1979. 159 p.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, Florida, v. 43, p. 1-202. 2002.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 2, p 1-10. 2003.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FLACÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 1, p.11-16, 2004.

RUMMEL, D. R.; LESER, J. F.; SLOSSERS, J. E.; PUTERKA, G. J.; NEEB, C. W.; WALTER, J. H.; BENEDICT, M. D.; HEILMAN, L. N.; NAMKEN, L. N.; NORMAN, J. W.; YOUNG, J. H. Theory and tactics of *Heliothis* population management. USDA. **Cult. Biol. Contr. Bull**, v. 316, 38 p.1986.

SCHULER, T. H.; POPPYA, G. M.; KERRYA, B. R.; DENHOLM, I. Insect-resistant transgenic plants. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 16, p.168-174, 1998.

SELVAPANDIYAN, A.; ARORA, N.; RAJAGOPAL, R.; JALALI, S. K.; VENKATESAN, T.; SINGH, S. P.; BHATNAGAR, R. K. Toxicity analysis of N- and C-terminus deleted vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 5855–5858, 2001.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. 2002. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVEIRA, L.C.P.; VENDRAMIM, L.D.; ROSSETTO, C.J. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 291-298, 1997.

TERRA T. F. **Análises citogenéticas e moleculares em populações de milho (*Zea mays* L.), teosinto (*Zea mexicana* L.) e em híbridos entre as duas espécies**. 2004. 76 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia – Plantas de Lavoura). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

TYRELL, D. J.; BULLA JR., L. A.; ANDREWS JR., R. E.; KRAMER, K. J.; DAVIDSON, L. I.; NORDIN, P. Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystals of selected *Bacillus thuringiensis* strains. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 145, p. 1052-1062, 1981.

VIDELA, G.W.; DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P.; NG, S.S. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larval growth and survivorship on susceptible and resistant corn at different vegetative growth stages. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 85, p. 2486-91, 1992.

WANG, R.; STEC, A.; HET, J.; LUKENS, L.; DOEBLEY, J. The limits of selection during maize domestication. **Nature**, London, v. 398, n. 6724, p. 236-239, 1999.

WAQUIL, J.M.; VILLELA, F.M.F.; SIEGFRIED, B.D.; FOSTER, J. Atividade biológica das toxinas do *Bt*, Cry 1a(b) e Cry 1f em *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.3, n.2, p.161-171, 2004.

WISEMAN, B. R.; PAINTER, R. H.; WASSOM, C. E. Detecting corn seedling differences in the greenhouse by visual classification o damage by the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 59, p.1211-1214. 1996.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D.H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agriculture pests. In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX, C. **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 81-100.

CAPÍTULO 2 – DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO TRANSGÊNICOS E ISOGÊNICOS CONVENCIONAIS EM RELAÇÃO À INFESTAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM TRÊS AMBIENTES

RESUMO - A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* é uma das mais importantes pragas do milho. Vários estudos são realizados para o seu manejo, integrando táticas como o controle químico, biológico ou através do uso de plantas resistentes. No intuito de oferecer alternativas de manejo eficiente com a mínima utilização de agrotóxicos, a tecnologia das plantas geneticamente modificadas tem sido objeto de muitos estudos. Essa tecnologia visa incorporar genes *cry* nas plantas para torná-las cada vez mais efetivas na redução de populações da praga, diminuindo os prejuízos na produção. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar a infestação de lagartas de *S. frugiperda* e respectivas injúrias em condições de campo, em híbridos transgênicos de milho comparados aos seus isogênicos convencionais, em duas épocas de semeadura e em duas regiões. Os híbridos foram semeados na 'safrinha' de 2010 em Jaboticabal, SP e no verão em 2010/2011, em Jaboticabal, SP e Pindorama, SP, em delineamento de blocos ao acaso, com sete tratamentos (híbridos) e quatro repetições. Diferentes níveis de infestação de lagartas ocorreram durante todo o desenvolvimento fenológico das plantas nos híbridos convencionais e nos híbridos geneticamente modificados, com significativas diferenças entre os dois grupos na maioria das avaliações. O híbrido 2B710HX foi o menos infestado com lagartas e o com menor área foliar danificada, o que se conclui que a toxina Cry1F foi a mais efetiva na proteção da planta em relação às demais proteínas tóxicas expressas pelos demais híbridos Bt contra a infestação e os danos promovidos por essa praga.

Palavras-Chave: controle, lagarta-do-cartucho, OGM, transgenia

1. Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das plantas domesticadas pelo homem mais antigas do mundo e é cultivada atualmente na maioria dos países. No Brasil, a cultura do milho é explorada em várias estações climáticas, tendo seu período de semeadura no final do verão e/ou no início do outono, comumente chamado de “safrinha”, por suceder outras culturas de primavera-verão, como soja, algodoeiro, etc.

As pragas encontram-se dentre os inúmeros fatores que afetam a produtividade das plantas e, entre elas, destaca-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), espécie de grande importância, não somente pelos danos que provoca, mas também pela dificuldade e baixa eficiência do controle químico (BOIÇA JUNIOR et al. 1993; ROEL & VENDRAMIM, 2006). Esse inseto ataca preferencialmente o cartucho das plantas de milho, consumindo grande parte da área foliar antes de as folhas se desenvolverem. O ataque intenso ainda nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta destrói a região basal do caule formador das novas folhas que constituem o “cartucho” das plantas, podendo levar à morte do colo e de todo o conjunto da parte aérea e raízes das plantas (WAQUIL et al. 1982). Para o manejo dessa praga, são recomendadas várias táticas de controle, incluindo métodos culturais, químicos e biológicos (CRUZ & WAQUIL, 2001).

O manejo dessa espécie tem sido realizado principalmente com o uso de produtos químicos, que além de afetar o meio ambiente, também podem promover resistência dos insetos a tais produtos (LIMA et al. 2006). A utilização de inseticidas químicos na tentativa de minimizar os prejuízos provocados por essa praga, muitas vezes, não produz o efeito esperado, o que acarreta o aumento de riscos de contaminação ambiental e a elevação de custos de produção (MENDES et al. 2011).

As plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos foram obtidas através de apuradas técnicas de laboratório. Após estudos com a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), foi introgridido um dos genes *cry* da bactéria nas plantas, dando origem a uma série de híbridos de milho geneticamente modificados que conferem de moderado a alto grau de resistência da planta a algumas espécies de

lepidópteros-praga (ARMSTRONG et al. 1995). O modo de ação dessas toxinas Cry envolve a ligação da toxina aos receptores na membrana das células do intestino médio dos insetos suscetíveis, seguido pela formação dos poros, ruptura do epitélio do intestino médio, suspensão da alimentação e morte (BRAVO et al. 2007).

Híbridos de milho com um único gene Bt tornaram-se disponíveis aos produtores dos E.U.A. no ano de 1996 e expressavam a proteína Cry1Ab (eventos MON 810, Bt-176 e Bt11). A justificativa para a obtenção dessas tecnologias transgênicas nos E.U.A. e Europa foi para controlar pragas de importância global e econômica, como a broca européia *Ostrinia nubilalis* (Hübner), a broca *Diatraea grandiosella* Dyar, *Heliothis virescens* (Fabr.) e a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (MILFIN, 1996; GIANESSI et al. 2002; SIEBERT et al. 2008a).

No Brasil atualmente estão disponíveis híbridos que expressam toxinas com maior especificidade para os lepidópteros-praga, além da combinação desses eventos com outros de tolerância a herbicidas. Por exemplo, os últimos Pareceres Técnicos da CNTBio autorizaram a liberação comercial do híbrido MON 89034 × MON 88017 (Monsanto®) que expressa as proteínas Cry1A.105 (Cry1Ab, Cry1Ac e Cry1F) e Cry2Ab2, as quais são ativas no controle da lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*), na proteção significativa contra a lagarta-da-espiga (*H. zea*), no controle de espécies de *Ostrinia* (broca-européia-do-milho ou broca-asiática-do-milho) e *D. saccharalis*, praga de cana e milho. Produz ainda a proteína CP4 EPSPS, que confere tolerância ao glifosato, e a proteína Cry3Bb1 que controla coleópteros (CTNBIO, 2012a). Outro híbrido liberado foi o milho resistente a insetos e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio TC1507 X MON 810 (Du Pont®) produzido por meio de técnica de melhoramento convencional cruzando-se o milho Herculex I evento TC1507 (milho TC1507- DAS – 01507-1) com o milho MON 810 (MON 00810-6). O evento TC 1507 inclui os genes *cry1F*, que confere proteção a insetos lepidópteros, e *Pat* que confere tolerância ao herbicida glufosinato de amônio. O milho MON 810 produz a proteína Cry1Ab, que também controla insetos lepidópteros, que representam pragas para o milho (CTNBIO, 2012b).

De acordo com MENDES et al. (2009) a eficiência para algumas das lagartas-alvo é bastante alta e pode dispensar a aplicação de defensivos. Entretanto, para a *S. frugiperda*, os dados obtidos pelos autores indicam alguma variação na proteção oferecida às plantas, sendo necessária a aplicação de inseticidas nos híbridos que expressam as toxinas Cry1Ab.

SOUZA et al. (2008) conduziram ensaios de campo de 1 ha em Jaboticabal, SP e Uberlândia, MG, submetendo o híbrido geneticamente modificado Herculex®, que expressa a toxina Cry1F, ao ataque natural de *S. frugiperda*. Foram comparados os resultados do Bt a outros dois tratamentos, um com o respectivo híbrido isogênico não Bt sem aplicação de inseticidas e com aplicação de inseticidas (aplicação que ocorreu assim que infestação atingia 25% de plantas com cartucho raspado). No tratamento com aplicação de inseticidas foram realizadas três aplicações. Na primeira aplicação foi utilizado Tracer ($0,05 \text{ L ha}^{-1}$); a segunda aplicação foi realizada com Lorsban ($0,6 \text{ L ha}^{-1}$) e a terceira foi feita com mistura de Lannate BR ($0,6 \text{ L ha}^{-1}$) e Match 50CE ($0,3 \text{ L ha}^{-1}$). Os pesquisadores verificaram nas avaliações, pelo método de escala de danos visuais de notas de DAVIS et al. (1992), que as médias de notas obtidas dos híbridos Herculex® foram significativamente inferiores aos resultados observados nos outros tratamentos, tanto no tratamento sem aplicação como no que houve a aplicação de inseticidas.

SANTOS et al. (2008) também através de 11 ensaios semelhantes, realizados em várias localidades do estado do Paraná, basearam-se nos resultados das avaliações na escala de notas visuais de danos de DAVIS et al. (1992), e concluíram que o híbrido Bt Herculex I®, que expressa a toxina Cry1F, apresentou nota média visual de danos significativamente bem menor que os outros híbridos transgênicos.

No Brasil, a liberação dos primeiros híbridos pela CTNBio para a comercialização aconteceu somente em 2008. As informações a respeito do desempenho desses híbridos comerciais no campo são as mais variadas possíveis, necessitando de estudos em várias regiões e condições de campo, para avaliar sua eficiência no controle dos lepidópteros-pragas, pois na literatura pouco se encontra sobre avaliações combinadas de infestações de lagartas de *S. frugiperda* e seus respectivos danos causados.

Assim sendo, neste trabalho, objetivou-se avaliar o desempenho de híbridos comerciais de milho convencional e seus isogênicos híbridos transgênicos que expressam as toxinas Cry1Ab (tecnologias Yieldgard® e Total Liberty®) e Cry1F (tecnologia Herculex®), com relação à infestação e sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* e injúrias causadas às plantas, em sua fase fenológica de desenvolvimento em dois locais na estação de primavera-verão, e em uma região de cultivo na estação de outono (safrinha).

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em áreas experimentais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Jaboticabal, SP e na Fazenda Experimental da APTA Pólo Regional Centro-Norte, Pindorama, SP.

No experimento de Jaboticabal, inicialmente foi realizada adubação de sementeira de 250 kg ha⁻¹ da fórmula 04-14-08 (NPK) e as sementes foram tratadas com tiametoxam (Cruiser® 350FS) 600 mL/100 kg de sementes. Como adubação de cobertura utilizou-se 250 kg ha⁻¹ de sulfato de amônia aos 35 dias após a emergência (DAE) das plantas.

A sementeira foi realizada manualmente na densidade de 10-12 sementes/m linear em 02/03/2010 na estação de outono (safrinha) e na segunda época de sementeira (primavera-verão) em 17/11/2010 (safra). Cada parcela foi constituída de cinco linhas de cinco metros de comprimento e 0,80 m de espaçamento entre linhas.

Na cidade de Pindorama, a sementeira foi realizada mecanicamente na densidade de 10-12 sementes/m linear, na data de 18/11/2010, com adubação de 300kg ha⁻¹ na fórmula NPK 8-28-16, em parcelas constituídas de oito linhas de 10 m e espaçamento de 0,80m. As sementes foram tratadas previamente com tiametoxam (Cruiser® 350FS) 600 mL/100 kg de sementes.

Os híbridos comerciais convencionais estudados foram: 30F35 (Pionner), 2B710 (Dow AgroSciences) e Impacto (Syngenta). Esses híbridos foram selecionados em função de haver os híbridos isogênicos transgênicos nos quais foram introgrididos os genes *cry* derivados de *B. thuringiensis*, que conferem resistência a certas espécies de lepidópteros-praga, sendo os híbridos 30F35Y que expressa a toxina Cry1Ab (tecnologia Yieldgard®), 30F35H e 2B710HX que expressam a toxina Cry1F (tecnologia Herculex®) e Impacto TL que expressa a toxina Cry1Ab (tecnologia Total Liberty®) (Tabela 1).

No experimento de Jaboticabal, as avaliações foram realizadas semanalmente a partir do sétimo DAE até os 56 DAE, no total de oito avaliações semanais no período de

março/2010 a abril/2010 (safrinha) e oito avaliações semanais no período de novembro/2010 a dezembro/2010 (safra).

Em Pindorama, as avaliações foram realizadas semanalmente a partir do 19 DAE até os 40 DAE. No total foram realizadas quatro avaliações semanais no período de novembro/2010 a dezembro/2010 (safra).

Tabela 1. Caracteres agrônômicos dos híbridos convencionais e transgênicos de milho utilizados nos experimentos em campo. 2010/2011.

Híbrido	Empresa	Tecnologia Bt	Toxina Bt
30F35	Pionner		
2B710	Dow AgroSciences		
Impacto	Syngenta		
30F35Y	Pionner	Yieldgard	Cry 1Ab
30F35 H	Pionner	Herculex®	Cry 1F
2B710 HX	Dow AgroSciences	Herculex®	Cry 1F
Impacto TL	Syngenta	Total Liberty®	Cry 1Ab

Para o estudo da infestação de lagartas nas plantas e das respectivas injúrias ou danos provocados às folhas, cinco plantas ao acaso por parcela foram arrancadas, preferencialmente das linhas centrais da parcela, as quais foram colocadas em sacos de papel e transportadas até o Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da FCAV/UNESP, onde foram inspecionadas uma a uma retirando-se as folhas individualmente até chegar às folhas mais novas no centro do cartucho das plantas. As lagartas encontradas entre as folhas no cartucho das plantas de milho foram anotadas, classificando-as visualmente em pequenas (<10 mm), médias (10 a 20 mm) e grandes (> 20 mm). Foi avaliado a intensidade de danos causados às folhas e ao cartucho das plantas, através da escala visual de notas de danos utilizada por FERNANDES et al. (2003), adaptada de DAVIS et al. (1992) (Tabela 2). Cada planta inspecionada recebeu uma nota individual de acordo com a escala de danos e para as análises dos dados foi feita a média das cinco plantas por parcela.

Tabela 2. Escala de notas (0 a 9) para avaliação de danos de *S. frugiperda* nas plantas de milho (de acordo com FERNANDES et al. 2003, adaptada de DAVIS et al. 1992):

Nota	Descrição
0	Planta sem sintoma de dano
1	Planta com pontuações de raspagem (mais que uma pontuação por planta)
2	Planta com pontuações; 1 a 3 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm)
3	Planta com 1 a 5 injúrias circulares pequenas (até 1,5 cm); mais de 1 a 3 lesões alongadas (até 1,5 cm)
4	Planta com 1 a 5 injúrias circulares pequenas (até 1,5 cm); mais 1 a 3 lesões alongadas (maiores que 1,5 cm e menores que 3,0 cm)
5	Planta com 1 a 3 injúrias alongadas grandes (maior que 3 cm) em 1 a 2 folhas; mais 1 a 5 furos ou lesões alongadas até 1,5 cm
6	Planta com 1 a 3 injúrias alongadas grandes (maiores que 3 cm) em 2 ou mais folhas; mais 1 a 3 furos grandes (maiores que 1,5 cm) em 2 ou mais folhas
7	Plantas com 3 a 5 injúrias alongadas grandes (maiores de 3,5 cm) em 2 ou mais folhas; mais 3 a 5 furos grandes (maiores que 1,5 cm) em 2 ou mais folhas
8	Plantas com muitas injúrias alongadas (mais que 5) de todos os tamanhos na maioria das folhas. Muitos furos médios a grandes (mais que 5) maiores que 3 cm em muitas folhas
9	Planta com muitas folhas, quase na totalidade, destruídas

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com sete tratamentos (híbridos) e quatro repetições. Os dados foram submetidos aos testes de Taylor para homogeneização das médias e redução das variâncias para indicar a melhor transformação dos dados. Estes foram transformados para $\log(x+5)$ e submetidos a Análise de Variância (Teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o Programa Computacional SAS.

3. Resultados e Discussão

3.1. Experimento em Jaboticabal, SP

3.1.1. Milho safrinha - 2010

Na primeira avaliação (sete DAE) não foram observadas diferenças significativas entre as médias do número de lagartas nos híbridos convencionais e transgênicos. Entretanto as médias das notas visuais de danos dos híbridos transgênicos foram menores quando comparadas com as médias dos híbridos convencionais. Isto aconteceu porque as lagartas pequenas nos híbridos convencionais se alimentaram continuamente provocando sintomas de folhas raspadas, enquanto que nos híbridos transgênicos as lagartas morriam após o início da alimentação. Também pode ter ocorrido a ação do inseticida utilizado no tratamento das sementes (Cruiser® 350FS) sobre as lagartas, ocasionando a morte das mesmas.

Na segunda avaliação (14 DAE), os dois híbridos com a tecnologia Herculex® que expressam a toxina Cry1F, apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação ao número de lagartas/planta com os demais híbridos Bt e não Bt. Nesta avaliação observou-se que os híbridos transgênicos 30F35Y e Impacto TL foram semelhantes aos híbridos convencionais (Tabela 3). Com relação às notas visuais de danos (Tabela 4), não foi verificada diferenças entre os vários híbridos. Esses resultados eram esperados, pois as lagartas para morrerem nos híbridos Bt, precisam se alimentar nos primeiros ínstares larvais, e com isto, provocam pequenas injúrias nas folhas, processo conhecido na prática como pequenas raspaduras na epiderme foliar.

Na terceira avaliação (21 DAE), o híbrido convencional 30F35 e o transgênico 30F35Y foram semelhantes entre si, enquanto os demais híbridos convencionais (2B710 e Impacto) e os híbridos transgênicos 30F35H, 2B710HX e Impacto TL apresentaram diferenças significativas (Tabela 3). Com relação às notas visuais de danos (Tabela 4), os híbridos convencionais apresentaram médias maiores em comparação às médias dos híbridos transgênicos.

Na quarta avaliação (28 DAE), os quatro híbridos transgênicos continuaram apresentando as menores notas visuais de danos e poucas lagartas pequenas. O híbrido não Bt 30F35 apresentou a maior nota visual de dano, igual a 2,30. Mesmo assim, é considerado um baixo índice de dano, não havendo a necessidade de pulverização, num campo comercial (em que a média para início de pulverização é de nota visual de dano igual a 4). Esta maior média de nota visual encontrada no híbrido não Bt 30F35 é decorrência da maior infestação de lagartas/planta ocorrida na avaliação da semana anterior (21 DAE) que foi constatada média de 0,40 lagartas pequenas e médias/planta (Tabela 3).

Na quinta avaliação (35 DAE) os híbridos transgênicos continuaram a apresentar as menores notas visuais de danos nas plantas, estatisticamente diferentes das médias de notas visuais dos híbridos não Bt (Tabela 4). Esses valores de notas visuais de danos a cada avaliação podem aumentar se as lagartas estavam na semana anterior danificando o cartucho das plantas. Esses resultados podem ser melhor observados nos híbridos não Bt 30F35 e Impacto, onde a infestação cresce no número de lagartas/planta, como também no tamanho das lagartas. Em relação ao número de lagartas/planta, não houve diferenças estatísticas entre os híbridos transgênicos e o híbrido convencional 2B710 (Tabela 3). Os híbridos convencionais 30F35 e Impacto apresentaram as maiores médias de lagartas/planta.

Na sexta avaliação (42 DAE), os híbridos convencionais 30F35 e Impacto e os transgênicos 30F35Y e 30F35H apresentaram médias de lagartas/planta estatisticamente maiores em comparação aos outros híbridos. Esses híbridos também apresentaram médias de notas visuais de danos maiores em comparação aos outros híbridos (2B710, 2B710HX e Impacto TL). Na sétima avaliação (49 DAE), os híbridos 30F35 e Impacto e o transgênico Impacto TL apresentaram médias de lagartas/planta estatisticamente maiores que os demais híbridos. Nas médias de notas visuais de danos, os híbridos convencionais e o transgênico Impacto TL apresentaram médias maiores que os demais híbridos transgênicos. Tais resultados se repetiram na oitava avaliação (56 DAE) (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Número médio de lagartas de *S. frugiperda* por planta em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010.

Híbridos	7 DAE	14 DAE	21 DAE	28 DAE	35 DAE	42 DAE	49 DAE	56 DAE
30F35	0,10*	0,20 A	0,40 A	0,10	0,30 A	0,10 A	0,10 A	0,10 A
2B710	0,00	0,05 A	0,10 B	0,20	0,05 B	0,05 B	0,05 B	0,20 A
Impacto	0,05	0,20 A	0,00 B	0,25	0,15 A	0,35 A	0,25 A	0,15 A
30F35 Y	0,05	0,05 A	0,25 A	0,00	0,00 B	0,15 A	0,00 B	0,00 B
30F35 H	0,00	0,00 B	0,10 B	0,05	0,05 B	0,20 A	0,00 B	0,00 B
2B710 HX	0,00	0,00 B	0,05 B	0,05	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B
ImpactoTL	0,05	0,15 A	0,00 B	0,00	0,00 B	0,00 B	0,10 A	0,05 A
Pr > F	0,7694	0,0022	0,0024	0,0783	0,0091	0,0100	0,0037	0,0085
F	0,54 ^{ns}	5,85*	5,75*	2,37 ^{ns}	4,30*	4,20*	5,25*	4,36*
CV	0,935	0,810	1,091	1,506	0,988	1,450	0,941	0,918

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

Tabela 4. Médias das notas visuais de danos provocados por *S. frugiperda* em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010.

Híbridos	7 DAE	14 DAE	21 DAE	28 DAE	35 DAE	42 DAE	49 DAE	56 DAE
30F35	0,40 A*	0,30	0,70 A	2,30 A	2,00 A	1,30 A	1,30 A	1,10 A
2B710	0,25 A	0,00	1,00 A	1,45 A	1,70 A	0,90 A	0,80 A	0,60 A
Impacto	0,40 A	0,00	1,10 A	1,50 A	1,60 A	1,10 A	1,20 A	1,10 A
30F35 Y	0,10 B	0,05	0,30 B	0,65 B	0,40 B	0,45 A	0,20 B	0,40 A
30F35 H	0,10 B	0,00	0,25 B	0,35 B	0,25 B	0,15 A	0,15 B	0,05 B
2B710 HX	0,15 B	0,10	0,25 B	0,35 B	0,35 B	0,10 B	0,20 B	0,05 B
Impacto TL	0,10 B	0,00	0,55 B	0,45 B	0,35 B	0,10 B	0,35 A	0,20 A
Pr > F	0,0205	0,1190	<,0001	<,0001	<,0001	0,0034	0,0021	0,0009
F	3,52*	2,04 ^{ns}	13,55*	16,04*	10,54*	5,34*	5,91*	6,90*
CV	1,448	1,393	1,979	2,929	4,046	4,006	3,675	3,309

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

Os menores valores de notas visuais de danos obtidos neste trabalho, nos híbridos geneticamente modificados, corroboram os resultados encontrados por BUNTIN et al. (2001) e FERNANDES et al. (2003), que também observaram que a infestação de lagartas de *S. frugiperda* em milho geneticamente modificado foi sempre

menor em relação aos híbridos não Bt, devido à ação das proteínas tóxicas Cry, presentes nos híbridos Bt.

Quando os híbridos Bt e não Bt são comparados entre si, observa-se que o híbrido que apresentou as maiores infestações e médias de notas visuais foi o 30F35. Em contrapartida, os híbridos que obtiveram as menores médias, tanto para as notas visuais de danos como para o número de lagartas/planta, foram os transgênicos 30F35H e 2B710HX, que possuem a tecnologia Herculex® e expressam a toxina Cry1F. Os resultados indicam que a expressão desta toxina nas plantas geneticamente modificadas apresentou as melhores respostas quando comparada com a toxina Cry1Ab, expressa pelos outros híbridos transgênicos, principalmente nos índices de notas visuais de danos nas folhas.

3.1.2. Milho safra - 2010/2011

As médias das notas visuais de danos e da infestação de lagartas/planta, apresentadas pelos híbridos convencionais e os transgênicos para época de semeadura de safra, indicam que aos sete DAE não apresentavam lagartas e, conseqüentemente, qualquer sintoma de injúria nas folhas (Tabelas 5 e 6).

Na segunda avaliação, aos 14 DAE, as plantas ainda pequenas e com aproximadamente quatro folhas e cartucho ainda em desenvolvimento, apresentavam lagartas, na maioria de tamanho pequeno a médio, por volta de 10 mm de comprimento nos híbridos convencionais não Bt com média acima de uma lagarta/planta a quase duas no híbrido Impacto.

Por outro lado, nos híbridos transgênicos, a infestação era menor, e mesmo assim, com presença de lagartas pequenas de 1º ou 2º instares larvais. Os híbridos mais eficientes no controle foram o 2B710HX, 30F35H e o Impacto TL, que expressam a proteína Cry1F (tecnologia Herculex®) e a tecnologia Total Liberty®, expressando a toxina Cry1Ab, respectivamente com 0,35; 0,75 e 0,65 lagartas pequenas/planta (Tabela 5). Comparando-se essas médias de infestação com as médias apresentadas pelos três híbridos não Bt, somente os híbridos 2B710HX e Impacto TL deferiram

significativamente do híbrido não Bt Impacto, o mais suscetível, com média de 1,80 lagartas/planta (de tamanho médio), enquanto que com os demais híbridos não houve significativa diferença de infestação (Tabela 5).

Com respeito aos danos ou injúrias causadas por estas médias de infestação de lagartas/planta, verificou-se que as notas visuais de danos atribuídas aos híbridos transgênicos 30F35H e 2B710HX foram menores e semelhantes entre si, enquanto os híbridos convencionais foram os mais danificados e obtiveram médias de notas visuais de danos maiores. O híbrido 2B710HX apresentou apenas pequenos sinais de injúrias provocados pelas poucas lagartas (Tabela 6).

Na terceira avaliação (21 DAE), os híbridos convencionais apresentaram as maiores médias de lagartas/planta (Tabela 5). Por outro lado, o híbrido transgênico 2B710HX apresentou a menor média de infestação, com apenas 0,35 lagartas pequenas/planta. Embora os demais híbridos Bt apresentavam mais que o dobro de lagartas pequenas em relação ao 2B710HX, não apresentaram diferença significativa entre as suas médias, e nem com as médias de todos os híbridos entre si (Tabela 6).

Considerando-se as médias de notas visuais de injúrias nas plantas aos 21 DAE (Tabela 6), verifica-se que os dois híbridos com tecnologia Herculex® tinham pouquíssimas injúrias, respectivamente com médias de notas visuais de 0,35 e 0,40 para os híbridos 2B710HX e 30F35H, enquanto que o híbrido Impacto TL apresentou o dobro na média de notas visuais; porém, esses três híbridos não apresentaram diferenças significativas entre as suas médias de notas visuais. No caso do híbrido Bt 30F35Y, com tecnologia Yieldgard®, que expressa a toxina Cry1Ab, o mesmo já apresentava nota visual de danos mais próximo das médias dos híbridos não Bt, inclusive de seu híbrido isogênico 30F35, o mais suscetível nesta avaliação, com média de notas de 1,55 (Tabela 6).

Na quarta avaliação (28 DAE), o híbrido Impacto apresentou a maior média de nota visual de dano (2,15), enquanto o híbrido transgênico 2B710HX apresentou a menor média (0,60), significativamente diferente dos três híbridos não Bt. Para o número de lagartas/planta, os híbridos não apresentaram diferenças significativas entre

si pelo total de lagartas, porém nos híbridos Bt somente foram encontradas lagartas pequenas (<10 mm).

Tabela 5. Número médio de lagartas de *S. frugiperda* por planta em híbridos convencionais e transgênicos em milho na safra. Jaboticabal- SP, 2010/2011.

Híbridos	7 DAE	14 DAE	21 DAE	28 DAE	35 DAE	42 DAE	49 DAE	56 DAE
30F35	0,00*	1,15 AB	1,00	1,30	1,65	1,20 AB	0,45 A	0,25
2B710	0,00	1,25 AB	1,25	1,15	1,20	0,95 AB	0,25 AB	0,20
Impacto	0,00	1,80 A	1,40	1,45	1,55	1,65 A	0,20 AB	0,05
30F35 Y	0,00	0,85 AB	0,95	1,15	1,05	0,45 B	0,20 AB	0,10
30F35 H	0,00	0,75 AB	0,80	1,45	1,20	0,40 B	0,10 AB	0,05
2B710 HX	0,00	0,35 B	0,35	1,25	1,75	0,50 B	0,00 B	0,05
Impacto TL	0,00	0,65 B	0,80	1,00	0,95	0,80 AB	0,30 AB	0,10
Pr > F	.	0,0082	0,1470	0,9534	0,5934	0,0040	0,0521	0,1891
F	. ^{ns}	4,20*	1,84 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,78 ^{ns}	4,88*	2,63*	1,66 ^{ns}
CV	.	4,287	4,803	5,677	5,594	3,928	2,042	1,468

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

Os resultados da quinta avaliação (35 DAE) mostraram que os híbridos convencionais apresentavam as maiores médias de notas visuais de danos dessa avaliação, dentre eles o híbrido 30F35 teve a maior média, enquanto os transgênicos apresentaram as menores médias de notas, sendo o 30F35Y com 0,90 e o 2B710HX com média de 0,80 (Tabela 6). O número de lagartas/planta não diferiu significativamente entre as médias apresentadas pelos híbridos, porém, o híbrido 2B710HX, mesmo apresentando a maior média de número de lagartas (lagartas pequenas), apresentou a menor média de notas de danos visuais, o que mostra que o híbrido que expressa a toxina Cry1F foi efetivo no controle das lagartas pequenas (Tabela 5).

Tabela 6. Médias das notas de danos visuais provocados por *S. frugiperda* em híbridos convencionais e transgênicos em milho na safra. Jaboticabal - SP, 2010/2011.

Híbridos	7 DAE	14 DAE	21 DAE	28 DAE	35 DAE	42 DAE	49 DAE	56 DAE
30F35	0,00 *	0,95 A	1,55 A	2,00 AB	2,15 AB	3,25 A	2,65 A	2,95 A
2B710	0,00	0,85 AB	1,20 AB	1,60 AB	1,80 AB	3,15 A	2,75 A	2,40 AB
Impacto	0,00	1,00 A	1,25 AB	2,15 A	2,20 A	3,30 A	2,85 A	2,65 AB
30F35 Y	0,00	0,75 AB	1,00 AB	1,25 BC	1,20 BC	1,80 B	2,05 AB	1,85 BC
30F35 H	0,00	0,30 CD	0,40 C	0,95 CD	0,90 CD	0,85 C	0,75 C	0,95 CD
2B710 HX	0,00	0,00 D	0,35 C	0,60 D	0,80 D	0,75 C	0,45 C	0,45 D
Impacto TL	0,00	0,50 BC	0,80 BC	1,00 CD	1,30 BC	1,05 C	1,20 BC	1,05 CD
Pr > F	.	<,0001	<,0001	<,0001	0,0002	<,0001	<,0001	<,0001
F	. ^{ns}	17,77*	11,92*	9,52*	8,52*	69,58*	28,57*	18,12*
CV	.	1,852	2,493	3,161	3,222	2,091	2,971	3,562

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p>0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p>0,05$.

Os resultados da sexta avaliação (42 DAE) obtidos nos híbridos convencionais apresentaram as maiores médias de notas visuais de danos, enquanto os híbridos transgênicos 30F35H, 2B710HX e Impacto TL apresentavam as menores notas (Tabela 6). Pela infestação da praga, baseada no número de lagartas/planta, os híbridos transgênicos 30F35Y, 30F35H e 2B710HX foram os que tiveram menor número de lagartas/planta, enquanto no híbrido Impacto foi observada maior infestação (Tabela 5). Novamente, o híbrido 2B710HX apresenta-se entre os híbridos Bt com a menor média de notas visuais de danos.

Na sétima avaliação, realizada aos 49 DAE, os híbridos convencionais apresentaram as maiores e significativas médias de notas visuais de danos, enquanto nos híbridos transgênicos 30F35H e 2B710HX foram verificadas as menores notas visuais de danos (Tabela 6). Baseado no número de lagartas/planta verifica-se que o híbrido convencional 30F35 apresenta maior número de lagartas/planta, enquanto o híbrido transgênico 2B710HX apresenta a menor média (Tabela 5).

Na última avaliação (56 DAE), pela infestação de lagartas/planta, as médias encontradas nos híbridos não foram significativamente diferentes, sendo que os híbridos transgênicos 30F35Y e 2B710HX e o híbrido não Bt Impacto apresentaram

médias iguais a 0,05 (Tabela 5). Os híbridos convencionais apresentaram as maiores médias de notas visuais de danos, enquanto que no híbrido 2B710HX foi verificada a menor média de notas visuais de danos (Tabela 6).

No geral, quando se comparam os resultados dos sete híbridos nas duas épocas de semeadura em Jaboticabal, SP, observa-se que os híbridos que foram mais infestados de lagartas e com maiores médias de notas visuais de danos nas folhas foram os convencionais. Em contrapartida, os híbridos que apresentaram as menores infestações de lagartas e menores médias de danos nas folhas e cartuchos, foram os híbridos transgênicos 30F35H e o 2B710HX. Ambos possuem a tecnologia Herculex® e expressam a toxina Cry1F. Quando comparados o desempenho destes híbridos tanto na safra quanto na safrinha, o híbrido 2B710HX apresentou os melhores resultados, principalmente na semeadura de safra, com os menores valores de médias de danos visuais e assim como de números de lagartas/planta, o que mostra a maior eficiência da expressão da toxina Cry1F no controle desta praga.

Desta forma pode-se concluir que os híbridos transgênicos possuem diferenças quanto à eficiência na redução dos danos ocasionados pela lagarta-do-cartucho em função da eficiência tóxica de suas respectivas proteínas Cry. Por exemplo, na revisão de FRANKENHUYZEN (2009), foram comparados 59 holótipos (toxinas) para 71 espécies de insetos. O espectro de atividade das proteínas Cry foi mais observado nas espécies da ordem Lepidoptera, entre elas a espécie *S. frugiperda*, e foi constatado que a toxina Cry1F foi mais ativa para *S. frugiperda*, enquanto que a proteína Cry1Ab foi considerada como não ativa, ou de baixa eficiência para a espécie.

O modo de ação da proteína tóxica Cry1F é semelhante às outras Cry1 (BRAVO et al. 2007). A proteína Cry1F, no intestino médio de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) parece se ligar a pelo menos um sítio de ligação da proteína Cry1Ac (JURAT-FUENTES & ADANG, 2001; BLANCO et al. 2008), o que pode ter somado mais atividade e determinado o seu melhor desempenho no controle das lagartas de *S. frugiperda*.

Em seus estudos com três diferentes populações de *S. frugiperda*, (uma mexicana, uma colombiana e uma brasileira), MONNERAT et al. (2006) afirmam que as

populações de insetos utilizados em seus estudos evoluíram de forma diferente em relação à suscetibilidade às toxinas Cry específicas. Há diferenças entre as interações toxina-receptor dentro dessas populações, sendo que duas contêm um receptor Cry1Da funcional em contraste com a terceira, onde essa ligação local está faltando. Portanto, a suscetibilidade de *S. frugiperda* a diferentes toxinas Cry deve ser cuidadosamente avaliada no desenvolvimento de estratégias de controle de insetos-praga, incluindo a implantação de milho geneticamente modificado, em diferentes regiões geográficas, onde já tenha sido relatado raças fisiológicas da espécie, decorrente da pressão seletiva causada por defensivos agrícolas ou por genótipos de plantas resistentes.

Durante toda a fase de desenvolvimento das plantas houve infestação de lagartas em ambas as épocas de plantio, e houve danos iniciais (raspaduras) nas folhas do milho transgênico por ocasião do início da alimentação das lagartas. As proporções de danos iniciais observadas nos híbridos transgênicos referem-se, portanto, ao comportamento inicial de alimentação das lagartas nas folhas. Entretanto, estes danos, ao contrário do observado nos híbridos suscetíveis convencionais, não progrediram devido à ação respectiva de cada uma das toxinas Cry presentes em cada híbrido.

Existem variações na suscetibilidade entre diferentes populações de espécies de *Spodoptera* a diferentes toxinas de *B. thuringiensis* atribuídas à variabilidade genética (HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al. 2008; SANTOS et al. 2009). Assim, a identificação e clonagem de diferentes genes eficazes contra espécies de *Spodoptera* são necessárias para se promover um controle satisfatório desses insetos (VALICENTE et al. 2010).

3.2. Experimento em Pindorama, SP – Milho safra 2010/2011

Na primeira avaliação, realizada aos 19 DAE, não foram observadas diferenças significativas entre as médias do número de lagartas/planta nos híbridos convencionais e transgênicos (Tabela 7). Entretanto, é possível observar que os híbridos convencionais 30F35 e 2B710 apresentaram médias de quase duas lagartas por planta e de todos os tamanhos. Por outro lado, as médias das notas visuais de danos entre os híbridos não apresentaram diferenças quando comparadas com as médias dos híbridos

convencionais, que chegaram a médias em torno de quatro. Em uma situação de cultura comercial, já se deveria entrar com algum controle químico (Tabela 8). Isto aconteceu porque as lagartas nos híbridos convencionais eram maiores, fase em que se alimentam vorazmente provocando sintomas e notas visuais de danos maiores. Enquanto isso, nos híbridos transgênicos as lagartas eram sempre pequenas, com comprimentos menores que 10 mm, principalmente de 1º e 2º ínstars, que no processo de alimentação apenas raspam a epiderme foliar, sem contudo causarem perfurações no limbo foliar.

Na segunda avaliação (26 DAE) o número médio de lagartas/planta também não diferiu significativamente entre os híbridos, porém os híbridos transgênicos apresentaram menores infestações. Já em relação às médias de notas visuais de danos, os híbridos convencionais apresentavam médias significativamente bem maiores que os híbridos transgênicos (Tabela 8), necessitando controle químico, principalmente os híbridos não Bt 2B710 e Impacto. Os híbridos 30F35H e 2B710HX apresentavam as menores médias de notas visuais de danos, de 0,70 e 1,00 respectivamente, exibindo folhas com algumas pontuações de raspagem causadas somente por lagartas pequenas.

Na terceira avaliação (33 DAE) as médias de lagartas/planta nos híbridos convencionais ainda foram maiores que os apresentados pelos híbridos transgênicos, apesar da infestação natural ter diminuído devido a fatores abióticos, principalmente a precipitação. Os híbridos mais atacados foram o 2B710, com média igual a 1,15 e o Impacto, com média igual a 1,10 lagartas/planta. Esse resultado expressa que nos híbridos convencionais já havia pelo menos uma lagarta grande se alimentando do cartucho, ocasionando injúrias às plantas. Já entre os híbridos transgênicos, o híbrido 2B710HX apresentava a menor média de infestação, com apenas de 0,05 lagartas pequenas/planta (Tabela 7).

Em relação às médias de notas visuais de danos, os híbridos convencionais apresentaram médias sempre maiores (2,80 no híbrido 2B710 e 2,70 no híbrido Impacto) enquanto os híbridos transgênicos apresentavam significativamente as menores médias de notas visuais de danos (0,50 no híbrido 2B710HX) (Tabela 8).

Tabela 7. Número médio de lagartas de *S. frugiperda* por planta em híbridos convencionais e transgênicos em milho safra. Pindorama - SP, 2010/2011.

Híbridos	19 DAE	26 DAE	33 DAE	40 DAE
30F35	1,65	1,65	0,65 AB	0,85
2B710	1,80	1,77	1,15 A	1,50
Impacto	1,05	1,15	1,10 A	0,95
30F35 Y	1,45	1,44	0,50 AB	0,50
30F35 H	1,35	1,40	0,15 B	0,10
2B710 HX	1,55	1,50	0,05 B	0,10
Impacto TL	1,20	1,20	0,25 B	0,10
Pr > F	0,8232	0,8233	0,0004	0,018
F	0,47 ^{ns}	0,47 ^{ns}	7,62*	3,47 ^{ns}
CV	6,379	6,379	3,327	5,679

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

A quarta avaliação, realizada aos 40 DAE, a infestação média de lagartas/planta não foi diferente estatisticamente uns dos outros. Porém pode-se observar que os híbridos transgênicos apresentaram médias bem menores, em torno de 0,10 lagartas/planta, enquanto o híbrido mais suscetível foi 2B710, apresentando média de infestação igual a 1,50 lagartas/planta.

No geral, verificando os resultados dos dois métodos de avaliações nas duas épocas de semeaduras de Jaboticabal, SP, e de Pindorama, SP, com os sete híbridos, observa-se que os híbridos mais infestados de lagartas e com maiores médias de notas visuais de danos acumulados nas folhas foram os convencionais. Em contrapartida, os híbridos que apresentaram as menores infestações de lagartas e menores médias visuais de danos nas folhas e cartuchos, foram os híbridos transgênicos 30F35H e o 2B710HX, que possuem a tecnologia Herculex® e expressam a toxina Cry1F. Quando comparados o desempenho destes híbridos, o híbrido 2B710HX apresentou os melhores resultados, com os menores valores de médias visuais de danos assim como infestação de lagartas/planta, o que mostra a maior eficiência da toxina Cry1F no controle desta praga.

Tabela 8. Médias das notas de danos visuais provocados por *S. frugiperda* em híbridos convencionais e transgênicos em milho safra. Pindorama - SP, 2010/2011.

Híbridos	19 DAE	26 DAE	33 DAE	40 DAE
30F35	2,45 B	2,45 B	2,35 AB	2,45 A
2B710	4,50 A	4,40 A	2,80 A	2,60 A
Impacto	4,20 A	4,30 A	2,70 A	2,70 A
30F35 Y	1,95 BC	1,90 BC	1,65 B	1,60 B
30F35 H	0,75 C	0,70 C	0,70 C	0,55 C
2B710 HX	0,90 C	1,00 C	0,50 C	0,50 C
Impacto TL	1,30 BC	1,20 BC	0,65 C	0,55 C
Pr > F	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
F	20,20*	20,00*	35,70*	46,85*
CV	4,597	4,597	2,724	2,475

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

Esses dados corroboram os de WAQUIL et al. (2002), que avaliaram diferentes híbridos que expressavam individualmente as toxinas Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F e Cry9C em que foram observadas diferenças significativas para os danos foliares com notas visuais variando de 0,1 (híbrido 2722 IMI – Cry1F) a 8,8 (híbridos Max 454R176 – Cry1Ac e Garst 8539 – Cry9C) (MICHELOTTO et al. 2011).

Os híbridos de milho contendo a toxina Cry1F forneceram controle efetivo da lagarta-do-cartucho na Argentina, em ensaios de campo em Los Altos, Catamarca. Os índices foram significativamente melhores para os híbridos contendo a toxina Cry1F em comparação com os híbridos de milho não Bt. Os resultados apresentados demonstram que híbridos de milho Cry1F podem servir como uma opção de manejo eficaz para a lagarta-do-cartucho na América do Sul, o que concordam os autores SIEBERT et al. (2008a) que obtiveram resultados semelhantes nos E.U.A.

As injúrias foliares causadas pelas lagartas nos híbridos Bt que expressam a toxina Cry1F atingiram média em torno de 1,30 em comparação com médias de notas visuais de 7,9 para os híbridos de milho não Bt, altamente suscetíveis à praga. Esses resultados foram obtidos em ensaios de campo realizados no sul dos E.U.A. por SIEBERT et al. (2008b) em que os híbridos de milho Bt (Cry1F) promoveram

significativa proteção às plantas quando expostas à pressão de alta infestação de lagartas de *S. frugiperda*.

4. Conclusões

- A intensidade de danos nas folhas do cartucho dos híbridos transgênicos foi significativamente menor que a dos híbridos convencionais, frente às infestações naturais de lagartas de *S. frugiperda*.

- Os híbridos transgênicos apresentaram infestações com lagartas pequenas a médias, e os convencionais chegaram a apresentar lagartas grandes.

- Lagartas maiores, nos híbridos convencionais, provocaram maiores notas visuais de danos, enquanto que lagartas menores, mesmo em maior número, provocaram menos danos aos híbridos transgênicos.

- A tecnologia Yieldgard se igualou aos valores apresentados dos híbridos convencionais.

- Os híbridos transgênicos 30F35H e 2B710HX (tecnologia Herculex®), que expressam a toxina Cry1F, foram os mais efetivos na redução da infestação de lagartas de *S. frugiperda* nas duas localidades e épocas de semeadura.

5. Referências

ARMSTRONG, C. L.; PARKER, G. B.; PERSHING, J. C.; BROWN, S. M.; SANDERS, P. R.; DUNCAN, D. R.; STONE, T.; DEAN, D. A.; DEBOER, D. L.; HART, J.; HOWE, A. R.; MORRISH, F. M.; PAJEAU, M. E.; PETERSEN, W. L.; REICH, B. J.; RODRIGUEZ, R.; SANTINO, C. G.; SATO, S. J.; SCHULER, W.; SIMS, S. R.; STEHLING, S.; TAROCHIONE, L. J.; FROMM, M. E. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 550-557, 1995.

BLANCO, C. A.; STORER, N. P.; ABEL, C. A.; JACKSON, R.; LEONARD, R.; LOPEZ, J.JR., PAYNE, G.; SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; TERÁN-VARGAS, A. P. Baseline susceptibility of tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Cry1F toxin from *Bacillus thuringiensis*. **Journal Economic Entomology**, Lanham, MD, US: Entomological Society of America, v. 101, p. 168-173, 2008.

BOIÇA JUNIOR., A. L.; GALLI, J .C.; BORTOLI, S. A. de; RODRIGUES JR., C.; LARA, F. M. Comparação de vinte e quatro genótipos de milho infestados por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 31-137, 1993.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, Glasgow, v. 49, p. 423-435, 2007.

BUNTIN, G. D.; LEE, D.; WILSON, D. M.; MCPHERSON, R. M. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, n. 1, p. 37-42, 2001.

CRUZ, I.; WAQUIL, J. M. Pragas da cultura do milho para silagem. In: CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S.; FERREIRA, J. J. **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p.141-207.

CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/14784.html>>. Parecer Técnico n. 3045/2011. 2012a.

CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/14784.html>>. Parecer Técnico n. 3021/2011. 2012b.

DAVIS, F. M.; NG, S. S.; WILLIAMS, W. P. **Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm**. Mississippi: Agricultural and Forest Experiment Station, n. 186, 1992. 9p. Technical Bulletin.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; NETO, A. F.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 25-35, 2003.

FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 101, p.1–16, 2009.

GIANESSI, L. P.; SILVERS, C. S.; SANKULA, S.; CARPENTER, J. E. **Plant biotechnology: current and potential impact for improving pest management in U.S. agriculture, insect resistant field corn**. Washington, D.C.: National Center for

Food and Agricultural Policy, 2002. Disponível em: <<http://www.ncfap.org/whatwedo/40CaseStudies.php>>.

HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P., FERRÉ, J., ESCRICHE, B. Susceptibility of *Spodoptera exigua* to 9 toxins from *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 97, p. 245–250, 2008.

JURAT-FUENTES, J. L.; ADANG, M. J. Importance of Cry1 δ -endotoxin domain II loops for binding specificity in *Heliothis virescens* (L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 67, p. 323-329, 2001.

LIMA, F. W. N.; OHASHI, O. S.; SOUZA, F. R. S.; GOMES, F. S. Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Acta Amazonica**, Manaus v. 36, n. 2, p. 147-150, 2006.

MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A. **Manejo integrado de pragas em lavouras plantadas com milho geneticamente modificado com gene bt (Milho Bt)**. 5.ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. Disponível em:<www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/milhoBT.htm>.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p.239-244, 2011.

MICHELOTTO, M. D.; FINOTO, E. L.; MARTINS, A. L. M.; DUARTE, A. P. Interação entre transgênicos (Bt) e inseticidas no controle de pragas-chave em híbridos de milho-safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78. n. 1, p. 71-79, 2011.

MIFLIN, B. A view from industry, In: PERSLEY, G. L. **Biotechnology and Integrated Pest Management**. Wallingford: CAB International, 1996. p. 367-386.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; ORDUZ, S.; JARAMILLO, G.; BENINTENDE, G.; COZZI, J.; DOLORES REAL, M.; MARTINEZ-RAMIREZ, A.; RAUSELL, C.; CERÓN, J.; IBARRA, J.E. ; RINCON-CASTRO, M. C.; ESPINOZA, A. M.; MEZA-BASSO, L.; CABRERA, L.; SANCHEZ, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Genetic variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Latin America is associated with variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v. 72, n. 11, p. 7029–7035. 2006.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p.1049-1054, 2006.

SANTOS, A. C. dos; ROSSETO, J.; MANZONI, C. G.; VILARINO, E. C.; HARTER, W. R.; PAVAN, L. A.; RIBEIRO, P. C. Herculex®I: milho geneticamente modificado como ferramenta no manejo integrado da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* Smith. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22, 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2008.

SANTOS, K. B. dos; NEVES, P.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, R. B. dos ; SANTOS, W. J. dos; BOAS, G. V.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). **Biological Control**, v. 50, p. 157–163. 2009.

SIEBERT, M. W.; BABOCK, J. M.; NOLTING, S.; SANTOS, J. J.; ADAMCZYK JR., P. A.; NEESE, J. E.; KING, J. N.; JEKINS, J. MCCARTY, G. M.; LORENZ, D.; FROMME, D.; LASSITER, R. B. Efficacy of Cry1F Insecticidal Protein in Maize and Cotton for Control of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Florida, v. 91, n. 4, p. 555-565. 2008a.

SIEBERT, M. W.; TINDALL, K. V.; LEONARD, B. R.; VAN DUYN, J. W.; BABCOCK, J. M. Evaluation of corn hybrids expressing Cry1F (Herculex I Insect Protection) against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the southern United States. **Journal of Entomology Science**, v. 43, p. 41-51, 2008b.

SOUZA, D. S. O.; CAMARA, H. P.; DALTRO, F. P.; MANZONI, C. G.; ROSSETO, J.; SANTOS, A. C.; VILARINO, E. C. Eficácia do milho Bt Herculex I® no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1727) (Lepidoptera: Noctuidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22, 2008, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia, 2008.

VALICENTE, F. M.; PICOLI, E. A. T.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. Molecular characterization and distribution of *Bacillus thuringiensis* cry1 genes from Brazilian strains effective against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Biological Control**, v. 53, p. 360–366. 2010.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; LORDELLO, A. I.; CRUZ, I.; OLIVEIRA, A. C. Controle da lagarta do cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p.163-166, 1982.

WAQUIL, J. M.; FERREIRA VILLELA, F. M.; FOSTER, J. E. Resistance of Bt transgenic maize (*Zea mays* L.) to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, p. 1-11. 2002.

CAPÍTULO 3 - DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO TRANSGÊNICOS E ISOGÊNICOS CONVENCIONAIS EM RELAÇÃO À INFESTAÇÃO DE *Helicoverpa zea* (BODDIE, 1850) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM TRÊS AMBIENTES

RESUMO - Dentre as pragas que atacam a cultura do milho, destaca-se a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea*. Essa praga prejudica a cultura atacando os estilo-estigmas e alimentando-se de grãos leitosos. Considerando-se as dificuldades para o controle químico dessa praga, as plantas geneticamente modificadas podem ser consideradas como uma tática adicional para o controle de insetos-praga com eficácia igual ou melhor que os inseticidas químicos convencionais. O objetivo desse trabalho foi determinar o comportamento de oviposição, intensidade de infestação de lagartas nas espigas, danos nos estilo-estigmas e nas espigas por *H. zea* em condições de campo, em híbridos convencionais de milho e nos seus respectivos híbridos isogênicos que expressam as toxinas Cry1Ab e Cry1F. Os híbridos foram semeados na safrinha de 2010 em Jaboticabal, SP, e na safra de 2010/2011, em Jaboticabal, SP, e Pindorama, SP, em delineamento de blocos ao acaso, com sete tratamentos (híbridos) e quatro repetições. Diferentes níveis de infestação de lagartas ocorreram durante todo o desenvolvimento fenológico das plantas nos híbridos convencionais e nos híbridos geneticamente modificados. Os híbridos que expressam as toxinas Cry1Ab e Cry 1F foram efetivos no controle da *H. zea* em Jaboticabal, independente da época de semeadura. Em Pindorama, SP, o híbrido 2B710HX, que expressa a toxina Cry1F apresentou bons resultados no controle da infestação de lagartas da praga.

Palavras-chave: lagarta-da-espiga, OGM, transgenia, oviposição

1. Introdução

A demanda mundial por milho vem aumentando nos últimos anos, impulsionada pelo crescimento econômico dos países asiáticos e pela utilização do cereal nos E.U.A. para a produção de etanol. Além disso, o consumo interno dos países também tem aumentado de forma considerável em decorrência do crescimento do setor de carnes, mais especificamente, de aves e suínos (PAVÃO & FERREIRA FILHO, 2011).

Existem vários fatores determinantes para produção desse grão, destacando-se o clima, manejo da cultura e principalmente o ataque de insetos. Dentre as pragas que atacam a cultura do milho, se destacam os lepidópteros da família Noctuidae, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae).

A lagarta-da-espiga *H. zea* é referida prejudicando a cultura de três formas: atacando os estilo-estigmas, impedindo a fertilização e, em consequência, ocasionam falhas nas espigas; alimentando-se de grãos leitosos, destruindo-os e, finalmente, os orifícios deixados pelas lagartas nas espigas, por ocasião da empupação no solo, facilitam a penetração de microrganismos que podem causar podridões (GASSEN, 1996).

H. zea é um inseto polífago, incluindo como hospedeiros além do milho, outras gramíneas, solanáceas, leguminosas, frutíferas e hortaliças, o que dificulta a implantação de um programa de manejo integrado do inseto. O controle de *H. zea* se faz quase que exclusivamente mediante emprego de inseticidas, sendo uma prática antieconômica e com muito baixa eficiência. Isto se deve ao fato das lagartas encontrarem-se protegidas no interior das espigas e do tamanho da planta, que inviabiliza a pulverização com trator. Além disso, provoca um efeito negativo no equilíbrio biológico existente entre o inseto-praga e seus inimigos naturais (CRUZ, 2002; GIOLO et al. 2006) e o uso desses inseticidas tem levado a vários problemas, incluindo a poluição ambiental e o aumento dos efeitos à saúde humana, tais como câncer e doenças do sistema imune. A seleção de populações resistentes também

causada por surtos significativos e importantes de pragas secundárias (DEVINE & FURLONG, 2007; BRAVO et al. 2011).

Os inseticidas microbianos têm sido propostos como alternativos aos inseticidas químicos, porém seu uso é limitado, já que a maioria dos microrganismos mostra um estreito espectro de atividade que lhes permite controlar certas espécies de insetos. Além disso, possuem baixa persistência no meio ambiente e requerem práticas de aplicação precisas, uma vez que muitos desses patógenos são específicos para insetos em estágios larvais ou depois de aplicados nas culturas são sensíveis à irradiação solar (BRAVO et al. 2011). Considerando-se todas essas dificuldades para o controle dessa praga, deve-se recorrer à pesquisa e implantação de outros métodos de controle.

As plantas geneticamente modificadas, como por exemplo o milho geneticamente modificado que expressa proteínas tóxicas de *Bacillus thuringiensis* Berliner, podem ser consideradas como uma tática adicional para o controle de insetos-praga com eficácia igual ou melhor que os inseticidas convencionais, além de serem compatíveis com os princípios do manejo integrado de pragas (FISCHHOFF, 1996; PAOLETTI & PIMENTEL, 2000; FRIZZAS, 2003).

As células bacterianas de *B. thuringiensis*, após a esporulação, produzem inclusões de cristais inseticidas que são formados por uma variedade de proteínas inseticidas chamadas de toxinas Cry ou Cyt. Estas toxinas mostram um espectro de atividade altamente seletivo matando uma estreita faixa de espécies de insetos. Genes *cry* foram introgrididos em plantas proporcionando uma forma mais direcionada e eficaz de controle de insetos-praga na agricultura. Concomitantemente, esta abordagem resultou numa redução significativa no uso de inseticidas químicos em locais onde esta tecnologia foi aceita (JAMES, 2005; BRAVO et al. 2011). SIMS et al. (1996) realizaram avaliações pré-comerciais de campo em pequenas parcelas para observar o desempenho do milho Bt frente à *H. zea* utilizando insetos criados em laboratório. Os pesquisadores demonstraram que houve um bom desempenho do milho Bt, causando mortalidade de 75% das lagartas de *H. zea* e inibindo severamente o crescimento das sobreviventes (STORER et al. 2001).

As plantas transgênicas com fins comerciais começaram a ser desenvolvidas nos anos 80, e testes de campo sob estritas condições de segurança se multiplicaram a partir de 1986, primeiramente com o tabaco nos E.U.A. e na França. Em dez anos, alcançavam-se 56 diferentes plantas transgênicas testadas em campo (KLEBA, 1998; COSTA et al. 2011). Híbridos de milho expressando os genes Bt utilizando diferentes eventos de transformação genética são comercialmente disponíveis (ANDOW & HUTCHISON, 1998; STORER et al. 2001).

Dentro desse contexto, o objetivo desse trabalho foi determinar o comportamento de *H. zea* em híbridos transgênicos e seus isogênicos transgênicos que expressam as toxinas Cry1Ab (tecnologias Yieldgard® e Total Liberty®) e Cry1F (tecnologia Herculex®) em dois locais na estação de primavera-verão, e em uma região de cultivo na estação de outono (safrinha).

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em áreas experimentais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Jaboticabal, SP e na Fazenda Experimental da APTA Pólo Regional Centro-Norte, Pindorama, SP.

No experimento de Jaboticabal, inicialmente foi realizada adubação de sementeira de 250 kg ha⁻¹ da fórmula 04-14-08 (NPK) e as sementes foram tratadas com tiametoxam (Cruiser® 350FS) 600 mL/100 kg de sementes. Como adubação de cobertura utilizou-se 250 kg ha⁻¹ de sulfato de amônia aos 35 dias após a emergência (DAE) das plantas. A sementeira foi realizada manualmente na densidade de 10-12 sementes/m linear em 02/03/2010 na estação de outono (safrinha) e na segunda época de sementeira (primavera-verão) em 17/11/2010 (safra). Cada parcela foi constituída de cinco linhas de cinco metros de comprimento e 0,80 m de espaçamento entre linhas.

Na cidade de Pindorama, a sementeira foi realizada mecanicamente na densidade de 10-12 sementes/m linear, na data de 18/11/2010, com adubação de 300kg ha⁻¹ na fórmula NPK 8-28-16, em parcelas constituídas de oito linhas de 10 m e espaçamento de 0,80 m. As sementes foram tratadas previamente com tiametoxam (Cruiser® 350FS) 600 mL/100 kg de sementes.

Os híbridos comerciais convencionais estudados foram: 30F35 (Pionner), 2B710 (Dow AgroSciences) e Impacto (Syngenta). Esses híbridos foram selecionados em função de haver os híbridos isogênicos transgênicos nos quais foram introgrididos os genes *cry* derivados de *B. thuringiensis*, que conferem resistência a certas espécies de lepidópteros-praga, sendo os híbridos 30F35Y, que expressa a toxina Cry1Ab (tecnologia Yieldgard®), 30F35H e 2B710HX que expressam a toxina Cry1F (tecnologia Herculex®) e Impacto TL que expressa a toxina Cry1Ab (tecnologia Total Liberty®).

A oviposição das mariposas de *H. zea* foi visualizada somente no experimento em Jaboticabal, SP, a partir do aparecimento dos primeiros vestígios dos conjuntos de estilo-estigma das espigas dos híbridos de milho. As avaliações ocorreram em dias alternados e cada conjunto de estilo-estigma era escolhido ao acaso e cuidadosamente vistoriado, para se observar o comportamento de oviposição das fêmeas, os locais de

postura e a quantidade de ovos colocada, em cada conjunto de estilo-estigma, em cada híbrido.

Após o início do processo de secamento dos estilo-estigmas das espigas, foram realizadas as coletas de cinco espigas por parcela, num total de 20 espigas por híbrido. Estas foram levadas em sacos de papel até o Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da FCAV/UNESP, onde foram abertas para observação do número de lagartas por espiga, classificando-as visualmente em pequenas (<10 mm), médias (10 a 20 mm) e grandes (> 20 mm), os danos ocasionados pelas lagartas nos estilo-estigmas, os números de grãos atacados por espiga e a área consumida em cm^2 (comprimento x largura), isto é, a área que foi consumida pela lagarta era cuidadosamente limpa de restos de alimentação e fezes do inseto e posteriormente medida com régua métrica, e foi representada em cm^2 de grãos+sabugos danificados pela alimentação. Para as análises dos dados foi feita a média das cinco espigas por parcela.

No total foram realizadas em Jaboticabal, SP, quatro avaliações durante o mês de maio/2010 (safrinha) e quatro avaliações durante o mês de janeiro/2011 (safra), épocas correspondentes ao pendoamento e presença das espigas com emissão de estilo-estigmas, e formação dos grãos nas espigas. Em Pindorama, SP, foram realizadas duas avaliações durante o mês de janeiro/2011.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com sete tratamentos (híbridos) e quatro repetições. Os dados obtidos de infestação de ovos/conjunto de estilo-estigma/espiga, da densidade larval por espiga (número de lagartas), porcentagem dos danos ocasionados pelas lagartas nos estilo-estigmas das espigas, do número de grãos leitosos atacados por espiga e a área consumida em cm^2 , foram submetidos aos testes de Taylor para homogeneização das médias e redução das variâncias para indicar a melhor transformação dos dados. Estes foram transformados para $\log(x+5)$ e submetidos a Análise de Variância (Teste F) e as médias dos tratamentos comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o Programa Computacional SAS.

3. Resultados e Discussão

3.1. Experimento em Jaboticabal - SP

3.1.1. Milho safrinha – 2010

3.1.1.1. Oviposição de *H. zea* nos híbridos de milho

O comportamento de oviposição das mariposas foi observado a partir da emissão dos primeiros vestígios de estilo-estigmas das espigas. Com relação aos locais de postura, a fêmea preferiu ovipositar nos estilo-estigmas na parte mais próxima da espiga. Em relação à cor desses conjuntos de estilo-estigma, este fator físico-morfológico não teve relação direta, sendo que a oviposição ocorreu tanto nos conjuntos mais arroxeados como nos mais claros. Segundo LARA (1999), a oviposição de mariposas dá-se devido à influência de infra-vermelhos irradiados pelas cores, atraindo ou repelindo o inseto. No caso, pode-se dizer que não houve preferência pela cor dos estilo-estigmas. Outros fatores como diferenças da fenologia de cada híbrido poderiam também influir nos resultados, pois os híbridos da Pioneer 30F35, 30F35Y e 30F35H tiveram um desenvolvimento pouco mais tardio em relação aos outros na safrinha, por volta de cinco dias a menos que os demais híbridos.

As médias do número de ovos de *H. zea* por conjunto de estilo-estigma não diferiram estatisticamente entre os híbridos convencionais e transgênicos (Tabela 9). Mariposas de *H. zea* não apresentaram preferência de oviposição entre plantas Bt e não Bt em condições de campo. Resultados semelhantes de oviposição de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) por variedades de algodão Bt e não Bt também foram encontrados por LIMA & TORRES (2011). Este comportamento de não distinção entre plantas Bt e não Bt para oviposição pode ser explicado pelo fato de que, à exceção da produção constitutiva da toxina na planta, não há outra diferença fenotípica entre as variedades Bt e não Bt (LIMA & TORRES, 2011).

Tabela 9. Médias do número de ovos de *H. zea* por conjunto de estilo-estigma em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safrinha. Jaboticabal – SP, 2010.

Híbridos	63 DAE	65 DAE	67 DAE	69 DAE	71 DAE	73 DAE	75 DAE
30F35	0,20	0,60	0,80	1,20	2,50	1,70	1,60
2B710	0,35	0,75	0,45	1,20	1,35	0,95	0,25
Impacto	0,10	0,20	0,65	0,70	1,40	1,80	1,15
30F35 Y	1,15	2,55	1,85	1,90	1,45	0,90	1,10
30F35 H	1,45	2,50	2,00	2,50	1,40	0,80	1,10
2B710 HX	0,70	1,45	0,85	1,00	1,30	0,75	0,45
Impacto TL	0,25	0,45	0,85	0,45	2,10	1,25	0,85
Pr > F	0,0799	0,0143	0,0474	0,0384	0,4464	0,2161	0,0582
F	2,36 ^{ns}	3,86 ^{ns}	2,79 ^{ns}	2,97 ^{ns}	1,02 ^{ns}	1,58 ^{ns}	2,62 ^{ns}
CV	6,161	8,309	6,511	6,637	6,239	5,626	4,951

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

3.1.1.2. Infestação de lagartas de *H. zea* e danos em híbridos de milho

A primeira avaliação de infestação de lagartas nas espigas, realizada aos 78 DAE, não apresentou diferença significativa entre os híbridos convencionais e os híbridos Bt 30F35H, 2B710HX e Impacto TL, somente o híbrido Bt 30F35Y apresentou a menor média (Tabela 10). Não houve diferença significativa entre os híbridos quanto aos danos nos estilo-estigmas. Com relação aos outros parâmetros (área de danos e média de grãos consumidos) não houve diferenças significativas entre os híbridos Bt, não Bt ou entre todos os híbridos.

Na segunda avaliação (82 DAE), os dois híbridos que expressam a toxina Cry1Ab (30F35Y e Impacto TL) e o híbrido que expressa a toxina Cry1F (30F35H) apresentaram as menores médias de lagartas/espiga (Tabela 10) juntamente com o híbrido não Bt 30F35. O híbrido Bt 2B710HX apresentou média estatisticamente igual aos híbridos 2B710 e Impacto. Com relação aos outros parâmetros (área de danos e média de grãos consumidos) não houve diferenças significativas, apenas o híbrido Bt 30F35Y apresentou uma pequena área de grãos+sabugos consumidos e o híbrido 2B710 apresentou um pequeno consumo de grãos pelas lagartas. Esse índice de grãos consumidos, enquanto não havia alguma área consumida, é explicado pela alimentação

das lagartas ocorrer em poucos grãos logo na ponta das espigas, o que impossibilita a comparação de áreas consumidas representadas pela medição do dano provocado pelas lagartas (área em cm^2).

Na terceira avaliação (89 DAE) os quatro híbridos transgênicos apresentaram as menores médias de lagartas/espiga (Tabela 10). O híbrido Impacto apresentou média estatisticamente igual a dos híbridos transgênicos (média igual a 0,40) e o híbrido não Bt 2B710 apresentou média de 0,80 lagarta/espiga, a maior infestação entre os híbridos nesta avaliação.

Em relação à porcentagem de danos nos estilo-estigmas, os três híbridos convencionais apresentaram as maiores médias e, estatisticamente, os híbridos Bt 30F35H, 2B710HX e Impacto TL também apresentaram médias iguais, porém menores. Apenas o híbrido 30F35Y apresentou média estatisticamente menor, isto é, igual a zero ou sem danos. O híbrido não Bt 2B710 apresentou média de 1,60 cm^2 de área consumida de grãos+sabugos, considerada a maior média, porém significativamente igual à média de 0,17 cm^2 de área consumida do híbrido 2B710HX. Neste caso do híbrido não Bt, as lagartas eram desenvolvidas, já de tamanho médio, e se alimentavam dos grãos e sabugos. Os outros híbridos Bt não foram danificados e apresentaram-se estatisticamente iguais entre si.

Em relação às médias de grãos consumidos, o híbrido 2B710 apresentou a maior média, igual a 3,20, enquanto os outros híbridos foram significativamente iguais e menores. Isso pode ser explicado pelo fato que a toxina Cry1Ab presente no híbrido 30F35Y foi efetiva no controle das lagartas, já que houve apenas pequeno dano nos estilo-estigmas das espigas e praticamente nenhum grão consumido e uma conseqüente área consumida de grãos em formação nas espigas.

Na quarta avaliação (96 DAE) os híbridos transgênicos continuaram a apresentar as menores médias de lagartas/espigas, juntamente com o híbrido convencional 30F35 (média de 0,40). Os híbridos 30F35Y e Impacto TL apresentaram as menores médias de infestação (0,20 e 0,15, respectivamente). Os híbridos não Bt 2B710 e Impacto apresentaram médias de uma lagarta/espiga, maior infestação dessa avaliação. A porcentagem de danos foi maior nos híbridos convencionais 30F35 e 2B710,

Tabela 10. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos nos estilo-estigmas, área consumida (cm²) e grãos consumidos/espiga por *H. zea* na safrinha. Jaboticabal - SP, 2010.

Híbridos	78 DAE				82 DAE			
	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número
30F35	0,60 A	0,00	0,00	0,00	0,10 B	20,00	0,00	0,00
2B710	0,35 A	20,00	0,00	0,00	0,70 A	0,00	0,00	0,15
Impacto	0,70 A	5,00	0,00	0,00	0,95 A	10,00	0,00	0,00
30F35 Y	0,05 B	15,00	0,00	0,00	0,15 B	5,00	0,07	0,20
30F35 H	0,20 A	0,00	0,00	0,00	0,20 B	0,00	0,00	0,00
2B710 HX	0,55 A	0,00	0,00	0,00	0,40 A	10,00	0,00	0,00
ImpactoTL	0,20 A	5,00	0,00	0,00	0,15 B	0,00	0,00	0,00
Pr > F	0,0298	0,3580	.	.	0,0017	0,2068	0,5048	0,4950
F	3,18*	1,20 ^{ns}	. ^{ns}	. ^{ns}	6,13*	1,62 ^{ns}	0,92 ^{ns}	0,94 ^{ns}
CV	2,899	38,601	0	0	2,816	33,292	0,721	2,109
Híbridos	89 DAE				96 DAE			
	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número
30F35	0,50 A	30,00 A	0,00 B	0,30 B	0,40 B	30,00 A	0,80	5,40 A
2B710	0,80 A	15,00 A	1,60 A	3,20 A	1,00 A	25,00 A	2,95	10,3 A
Impacto	0,40 B	15,00 A	0,00 B	0,00 B	1,00 A	0,00 B	0,00	0,20 B
30F35 Y	0,20 B	0,00 B	0,00 B	0,10 B	0,20 B	25,00 A	1,00	1,30 B
30F35 H	0,25 B	5,00 A	0,00 B	0,05 B	0,45 B	35,00 A	0,42	2,55 B
2B710 HX	0,30 B	10,00 A	0,17 A	0,70 B	0,45 B	5,00 A	0,37	1,10 B
ImpactoTL	0,10 B	5,00 A	0,00 B	0,00 B	0,15 B	0,00 B	0,00	0,40 B
Pr > F	0,0012	0,1175	0,0107	0,0004	0,0003	0,0094	0,0238	0,0026
F	6,54*	2,05*	4,13*	8,06*	8,54*	4,26*	3,39 ^{ns}	5,62*
CV	1,900	30,229	5,691	6,999	2,272	28,990	9,515	16,079

*Médias originais seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

significativamente igual nos híbridos Bt 30F35Y e 30F35H. No híbrido convencional Impacto e no transgênico Impacto TL, nesta avaliação, não foram encontradas lagartas nas espigas.

As médias de áreas consumidas nas pontas das espigas foram estatisticamente iguais em todos os híbridos (Tabela 10). A média geral acumulada de grãos consumidos foi maior nos híbridos convencionais 30F35 e 2B710 e menor e significativamente iguais entre si nos híbridos Bt e no convencional Impacto. É possível observar que no híbrido não Bt Impacto e no Bt Impacto TL as médias foram as menores (0,20 e 0,40 respectivamente) (Tabela 10).

Quando os híbridos Bt e não Bt são comparados entre si, observa-se que os híbridos que apresentaram as maiores infestações nas quatro avaliações foram os convencionais 30F35 e o Impacto. Em contrapartida, os híbridos que obtiveram as menores médias de infestação de lagartas/espiga foram 30F35Y e Impacto TL, que possuem a tecnologia Yieldgard® e Total Liberty® e ambos expressam a toxina Cry1Ab.

3.1.2. Milho safra – 2010/2011

3.1.2.1. Oviposição de *H. zea* nos híbrido de milho

O comportamento de oviposição das mariposas foi observado a partir dos primeiros vestígios de estilo-estigmas das espigas. Com relação aos locais de postura nos estilo-estigmas, as mariposas deram preferência à parte mais basal, mais próxima da espiga em todos os híbridos. A oviposição foi muito baixa e estatisticamente igual em todas as avaliações (Tabela 11). Em comparação com a semeadura da safrinha a densidade de ovos/conjunto de estilo-estigma foi bem menor, e isso pode ter ocorrido pela coincidência de frequência pluvial ocorrida na época de emissão dos estilo-estigmas nas espigas, período de oviposição da *H. zea* em milho.

Tabela 11. Médias do número de ovos de *H. zea*/conjunto de estilo-estigma em híbridos convencionais e transgênicos em campo na safra. Jaboticabal – SP, 2010/2011.

Híbridos	59 DAE	61 DAE	63 DAE	65 DAE	67 DAE	69 DAE	71 DAE
30F35	0,00	0,00	0,00	0,40	0,05	0,00	0,00
2B710	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
Impacto	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30F35 Y	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30F35 H	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
2B710 HX	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00
Impacto TL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
Pr > F	.	.	0,4552	0,108	0,455	.	0,455
F	. ^{ns}	. ^{ns}	1,00 ^{ns}	2,07 ^{ns}	1,00 ^{ns}	. ^{ns}	1,00 ^{ns}
CV	0	0	1,304	2,367	0,460	0	0,460

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

3.1.2.2. Infestação de lagartas de *H. zea* e danos em híbridos de milho

Na primeira avaliação após o secamento dos estilo-estigmas, realizada aos 78 DAE, o híbrido não Bt 30F35 apresentou a maior média de lagartas/espiga (0,65) enquanto o híbrido não Bt 2B710 apresentou a menor média de lagartas/espiga (0,05) (Tabela 12). Os híbridos transgênicos não diferiram significativamente entre si no número de lagartas/espiga. Os demais híbridos não diferiram estatisticamente entre si nos demais índices observados (Tabela 12).

Na segunda avaliação (82 DAE) o híbrido convencional 30F35 apresentou as maiores médias infestações de lagartas/espiga (0,55) e de porcentagem de danos nos estilo-estigmas (Tabela 12). Por outro lado, os híbridos com menores médias de lagartas/espiga foram o híbrido convencional 2B710 e o híbrido Bt 30F35Y. O híbrido com menor dano nos estilo-estigmas foi o 2B710HX. As baixas médias de porcentagem de danos apresentadas pelos híbridos transgênicos deve-se à expressão das toxinas Bt nos estilo-estigmas, o que ocasiona a morte das lagartas de 1^o e 2^o ínstaes logo no início da sua alimentação. Os híbridos não apresentaram diferenças significativas entre si nos índices de áreas de grãos+sabugos e grãos consumidos/espiga.

A terceira avaliação, realizada aos 89 DAE, não apresentou diferenças significativas entre os híbridos nas médias de infestação de lagartas/espiga. O híbrido não Bt Impacto apresentou a maior média de danos nos estilo-estigmas enquanto os demais híbridos não diferiram entre si (Tabela 12), sendo que os híbridos 30F35, 2B710 e 2B710HX não apresentaram danos aparentes nos estilo-estigmas. Provavelmente as lagartas se alimentavam pouco e logo se introduziam na espiga, alimentando-se da ponta do sabugo ou sofreram a ação de inimigos naturais, como as tesourinhas. Em relação às áreas de grãos+sabugos consumidos, não houve diferenças significativas entre os híbridos (Tabela 12).

Finalmente, na quarta avaliação (96 DAE), os híbridos não diferiram estatisticamente em nenhum dos parâmetros avaliados. Os danos nos estilo-estigmas das espigas dos híbridos transgênicos foram provocados na sua maioria por lagartas pequenas de 1^o e 2^o instares que foram visualizadas nas avaliações.

No geral, o híbrido convencional 30F35 apresentou as maiores médias de infestação de lagartas/espiga e danos nos estilo-estigmas (na 2^a avaliação). O híbrido não Bt 2B710 e o híbrido transgênico 30F35Y apresentaram as menores médias de lagartas/espiga na 1^a avaliação e o híbrido 2B710 continuou com o menor número de lagartas/espiga também na segunda avaliação. Nesse caso, o material genético foi mais importante do que o efeito da transgenia.

As culturas de híbridos transgênicos devem fornecer uma distribuição de alta dose da toxina para maximizar a mortalidade dos insetos-alvo e permitir melhor distribuição das toxinas para todas as partes da planta. Essa condição nem sempre ocorre nas espigas de milho Bt, pois nem todas as partes da espiga expressam o mesmo nível da endotoxina. Resultados de estudos em alelos de segregação mostraram um número variável de genes Bt entre os grãos, resultando em 25% de grãos não expressando a toxina. Assim, a heterogeneidade da distribuição da toxina nas espigas pode proporcionar a oportunidade para o desenvolvimento de uma resposta comportamental de *H. zea* frente à toxina (HORNER et al. 2003).

Tabela 12. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos nos estilo-estigmas, área consumida (cm²) e grãos consumidos/espiga por *H. zea* na safra. Jaboticabal - SP, 2010/2011.

Híbridos	78 DAE				82 DAE			
	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número
30F35	0,65 A	60,00	0,01	0,10	0,55A	55,00A	0,01	0,10
2B710	0,05B	15,00	0,75	3,50	0,05B	10,00AB	0,40	1,95
Impacto	0,20AB	35,00	0,00	0,00	0,25AB	35,00AB	0,05	0,35
30F35 Y	0,15AB	20,00	0,00	0,00	0,05B	10,00AB	0,00	0,00
30F35 H	0,30AB	45,00	0,00	0,00	0,30AB	40,00AB	0,00	0,00
2B710 HX	0,15AB	0,00	0,27	1,00	0,15AB	0,00B	0,27	1,00
ImpactoTL	0,10AB	15,00	0,00	0,00	0,10AB	15,00AB	0,00	0,00
Pr > F	0,0701	0,1174	0,0812	0,0738	0,0206	0,0081	0,6159	0,6788
F	2,40*	2,01 ^{ns}	2,29 ^{ns}	2,36 ^{ns}	3,38*	4,21*	0,75 ^{ns}	0,66 ^{ns}
CV	2,871	36,224	4,012	12,567	2,210	27,458	4,057	13,414
Híbridos	89 DAE				96 DAE			
	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número
30F35	0,35	0,00B	1,07	6,90	0,30	0,00	1,25	4,00
2B710	0,25	0,00B	1,27	6,25	0,15	5,00	0,75	3,60
Impacto	0,55	50,00A	0,07	0,15	0,35	35,00	0,00	0,00
30F35 Y	0,10	5,00B	0,10	1,00	0,25	0,00	0,55	5,25
30F35 H	0,40	5,00B	0,67	6,35	0,35	5,00	0,50	5,55
2B710 HX	0,05	0,00B	0,00	0,00	0,20	0,00	0,72	4,00
ImpactoTL	0,05	10,00B	0,00	0,00	0,30	25,00	0,07	0,30
Pr > F	0,0748	0,0011	0,0145	0,0164	0,9067	0,0506	0,1031	0,2617
F	2,35 ^{ns}	6,25*	3,68 ^{ns}	3,58 ^{ns}	0,34 ^{ns}	2,65 ^{ns}	2,11 ^{ns}	1,42 ^{ns}
CV	2,832	30,700	5,746	19,754	2,934	36,726	6,043	22,080

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com $p > 0,05$. Dados originais.

^{ns} – não significativo para $p > 0,05$.

Os híbridos transgênicos possuem diferenças quanto à eficiência na redução dos danos ocasionados pela lagarta-da-espiga em função da eficiência tóxica de suas respectivas proteínas Cry. Por exemplo, na revisão de FRANKENHUYZEN (2009), foram comparados 59 holótipos (toxinas) para 71 espécies de insetos. O espectro de atividade das proteínas Cry foi mais observado nas espécies da ordem Lepidoptera, entre elas a espécie *H. zea*, e foi constatado que as toxinas Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac foram mais ativas para *H. zea*, enquanto que a proteína Cry1F foi considerada como de baixa eficiência para a espécie.

3.2. Experimento em Pindorama, SP – Milho safra 2010/2011

Na primeira avaliação (82 DAE) não houve diferenças significativas entre as infestações de lagartas/espiga e porcentagem de danos nos estilo-estigmas. O híbrido convencional 2B710 apresentou a as maiores médias de área consumida de grãos+sabugo e os híbridos convencionais 30F35 e Impacto e os híbridos transgênicos 30F35 e 2B710HX apresentaram as menores médias de área consumida de grãos+sabugos. Para o parâmetros de grãos consumidos/espiga, o híbrido 2B710 apresentou a maior média, enquanto os demais híbridos 30F35 e Impacto e transgênicos, não diferiram significativamente entre si nesses parâmetros (Tabela 13).

Na segunda avaliação realizada aos 87 DAE, não houve diferenças significativas entre as infestações de lagartas/espiga. Os danos provocados pelas lagartas nos estilo-estigmas das espigas foram maiores no híbrido convencional Impacto e menores no híbrido transgênico 2B710HX. Em relação à área consumida de grãos+sabugos e número de grãos consumidos não houve diferenças significativas entre is híbridos (Tabela 13).

Em Pindorama, SP, no geral, o híbrido transgênico 2B710HX apresentou as menores médias de grãos+sabugos consumidos e menores porcentagens de danos nos estilo-estigmas, o que demonstra que a expressão da toxina Cry1F foi efetiva no controle de lagartas ainda pequenas de *H. zea* nas espigas.

Quando comparados os resultados nas duas localidades onde foram realizados

Tabela 13. Médias das avaliações do número de lagartas/espiga, porcentagem de danos os estilo-estigmas, área consumida (cm²) e grãos consumidos/espiga por *H. zea* na safra. Pindorama - SP, 2010/2011.

Híbridos	82 DAE				87 DAE			
	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número	Lagartas	Dano %	Área cm ²	Grãos Número
30F35	0,65	55,00	0,11 B	1,10 B	0,50	35,00 ABC	1,49	6,25
2B710	1,00	25,00	2,59 A	10,00 A	0,20	45,00 AB	0,57	4,50
Impacto	0,70	65,00	0,05 B	0,25 B	0,45	55,00 A	5,60	1,95
30F35 Y	0,55	45,00	0,00 B	0,00 B	0,15	10,00 BC	1,85	2,55
30F35 H	0,35	20,00	0,63 AB	2,70 B	0,05	20,00 ABC	0,65	2,60
2B710 HX	0,50	35,00	0,15 B	0,03 B	0,05	0,00 C	0,00	0,00
Impacto TL	0,55	55,00	0,57 AB	0,65 B	0,15	40,00 ABC	0,21	2,45
Pr > F	0,3493	0,2230	0,0190	0,0044	0,0196	0,0007	0,2263	0,2431
F	1,20 ^{ns}	1,54 ^{ns}	3,45*	4,78*	3,42 ^{ns}	6,75*	1,53 ^{ns}	1,47 ^{ns}
CV	3,813	22,072	8,602	17,031	2,220	21,001	17,531	20,159

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey com p>0,05. Dados originais.

^{ns} – não significativo para p>0,05.

os experimentos, verificou-se que não houve diferenças entre os resultados dos híbridos estudados, em relação às toxinas expressas, sendo o híbrido transgênico 2B710HX, que expressa a toxina Cry1F, tecnologia Herculex®, apresentou as menores médias para os parâmetros estudados.

4. Conclusões

- Híbridos Bt e não Bt foram ovipositados por *H. zea* de forma semelhante;
- Os híbridos transgênicos 30F35Y, 30F35H, 2B710HX e Impacto TL, tecnologias Yieldgard®, Herculex® e Total Liberty®, que expressam as proteínas Cry1Ab e Cry1F foram efetivas para lagartas de *H. zea* em Jaboticabal, SP;
- O híbrido 2B710HX, tecnologia Herculex®, que expressa a proteína Cry1F foi mais efetivo para lagartas de *H. zea* em Pindorama, SP.

5. Referências

ANDOW, D. A.; HUTCHISON, W. D. Bt-corn resistance management. In: MELLON, M.; RISSLER, J. (eds.). **Now or never: serious new plans to save a natural pest control**. Cambridge, Union of Concerned Scientists, MA, 1998. p. 19-66.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, GB: Pergamon Press, v. 41, p. 423-431, 2011.

COSTA, T. E. M. M.; DIAS, A. P. M.; SCHEIDEGGER, E. M. D.; MARIN, V. A. 2007 Avaliação de risco dos organismos geneticamente modificados. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 327-336, 2011.

CRUZ, I. Resistência de *Spodoptera* a inseticidas. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 37, p.12-14, 2002.

DEVINE, G. J.; FURLONG, M. J. Insecticide use: contexts and ecological consequences. **Agriculture and Human Values**, v. 24, p. 281-306, 2007.

FISCHHOFF, D. A. Insect-resistant crop plants. In: PERSLEY, G. J. **Biotechnology and integrated pest management**. Wallingford: CAB International, 1996. cap. 12, p. 214-227.

FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 101, p.1-16, 2009.

FRIZZAS, M. R. **Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a comunidade de insetos**. 2003. 206 f. Tese (Doutorado em Ciências, área de

concentração Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

GASSEN, D. N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 134p.

GIOLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; MANZONI, C. G.; BERNARDI, O.; ZART, M. Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS: UFREL, v. 12, n. 2, p. 167-171, 2006.

HORNER, T. A.; DIVELEY, G. P.; HERBERT, D. A. Development, survival and fitness performance of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) in MON810 Bt field corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, MD, v. 96, n. 3, p. 914-924, 2003.

JAMES, C. **Situação global da comercialização das lavouras GM**: 2005. ISAAA - International Service for the Acquisition of Agro-Biotech Applications. BRIEF 34 Disponível em: <
<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/34/executivesummary/pdf/Brief%2034%20-%20Executive%20Summary%20-%20Portuguese.pdf>>. Acesso em 03 jan. 2012. Sumário Executivo.

KLEBA, J. B. Riscos e benefícios de plantas transgênicas resistentes a herbicidas: o caso da soja RR da Monsanto. **CC&T**, v. 15, n.3, p.9-42, 1998.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo, Icone, 1991. 2 ed, 336 p.

LIMA, M. S.; TORRES, J. B. Produção da toxina Cry1Ac e preferência para alimentação e oviposição de *Alabama argillacea* em algodão Bt sob estresse hídrico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 5, p. 451-457, 2011.

PAVÃO, A. R.; FERREIRA FILHO, J. B. S. Impactos econômicos da introdução do milho Bt11 no Brasil: uma abordagem de equilíbrio geral inter-regional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Piracicaba, SP, v. 49, n. 1, p. 81-108, 2011.

PAOLETTI, M. G.; PIMENTEL, D. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, Dordrecht, Holanda, NL: Kluwer Academic Publishers, v. 12, p. 279-303, 2000.

SIMS, S. R.; PERSHING, J. C.; REICH, B. J. Field evaluation of transgenic corn containing a *Bacillus thuringiensis* Berliner insecticidal protein gene against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v. 31, p. 340-346, 1996.

STORER, N. P.; VANDUYN, J. W.; KENNEDY, G. G. Life history traits of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt transgenic corn hybrids in eastern North Carolina. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, MD, US: Entomological Society of America, v. 94, n. 5, p.1268-1279, 2001.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tecnologia de milho geneticamente modificado tem se mostrado bem-sucedida, mesmo que ainda um número limitado de genes *cry* sejam introgrididos em plantas transgênicas. Novas proteínas Cry ativas contra pragas importantes estão sendo introduzidas nos cultivos transgênicos, havendo a diminuição da possibilidade para o aparecimento de raças fisiológicas resistentes.

As empresas já liberaram no mercado as novas gerações de cultivos Bt com múltiplas toxinas Cry na mesma planta, reduzindo a possibilidade do desenvolvimento de resistência dos insetos, controlando espécies de insetos de ordens como lepidópteros e coleópteros, além de tolerância a herbicidas, como por exemplo o PowerCore®, que contém cinco genes modificadores: dois genes tolerantes a herbicidas e três genes resistentes a pragas, o que amplia o espectro de controle de lagartas.

Estudos com os híbridos transgênicos e seus isógenos convencionais são importantes pois, ampliando o entendimento do modo de ação das proteínas inseticidas do ponto de vista molecular e compreendendo a variabilidade genética segundo a localização das espécies de pragas que são o alvo dessas proteínas, a introdução dessa tecnologia como umas das táticas no Manejo Integrado de Pragas no controle efetivo tem um amplo futuro no intuito de diminuir o uso de agrotóxicos, otimizar os custos e a produção e facilitar o manejo dessas pragas pelo agricultor.

Os resultados encontrados nas pesquisas em Jaboticabal, SP, e Pindorama, SP, permitem ao agricultor uma visão real da disponibilidade de híbridos transgênicos atualmente comercializados no estado de São Paulo. A escolha de um híbrido pode ser pautada pelo custo-benefício entre os híbridos testados, entre aqueles que expressam a proteína Cry1F, como o Herculex® da Dow AgroSciences, e o 30F35H da Pioneer®, que foram superiores no controle da *S. frugiperda* em relação aos outros híbridos, que expressam a proteína Cry1Ab, tecnologias Yieldgard® e Total Liberty®. Como as espécies *S. frugiperda* e *H. zea* apresentam grande variabilidade genética no Brasil, outros híbridos com várias proteínas tóxicas serão lançadas no mercado brasileiro.