

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE MILHO  
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO À *Diatraea saccharalis*  
(FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)**

**Gislane da Silva Lopes  
Engenheira Agrônoma**

**2014**

**T  
E  
S  
E.  
/  
L  
O  
P  
E  
S**

**G.  
S.**

**2  
0  
1  
4**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE MILHO  
CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO À *Diatraea saccharalis*  
(FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)**

**Gislane da Silva Lopes**

**Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

**2014**

L864r      Lopes, Gislane da Silva  
Resistência de cultivares de milho convencional e transgênico à  
*Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) /  
Gislane da Silva Lopes. -- Jaboticabal, 2014  
xxi, 92 p. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Arlindo Leal Boiça Junior

Banca examinadora: José Roberto Scarpellini, Marcelo Francisco  
Arantes Pereira, Antônio Carlos Busoli, Ricardo Antônio Polanczyk.

Bibliografia

1. Broca do colmo. 2. Resistência de plantas. 3. *Zea mays*. 4.  
Milho Bt I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias.

CDU 595.78:633.15

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

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
CAMPUS DE JABOTICABAL  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO À *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

**AUTORA:** GISLANE DA SILVA LOPES

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR  
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. ANTONIO CARLOS BUSOLI  
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK  
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Prof. Dr. JOSE ROBERTO SCARPELLINI  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Ribeirão Preto/SP

  
Prof. Dr. MARCELO FRANCISCO ARANTES PEREIRA  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / São José do Rio Preto/SP

Data da realização: 25 de setembro de 2014.

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Gislane da Silva Lopes – nascida em 01 de novembro de 1981, São Luís-MA, é filha de Gideone da Silva Lopes e Hildete Garcez dos Santos. Graduada em Engenharia Agrônômica pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Câmpus São Luís, em julho de 2008. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão (FAPEMA) por dois anos e trabalhou sob orientação da Prof<sup>a</sup> Msc. Ana Maria Maciel Leite. Na área de Entomologia, fez estágio e monografia sob orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Raimunda Nonata Santos de Lemos. Na Universidade Estadual do Maranhão - Câmpus Imperatriz (2009-2011) foi professora substituta e Mestre em Agroecologia (2010). Atualmente é aluna de Doutorado do curso de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, pela FCAV/UNESP, Câmpus Jaboticabal (2011) sob a orientação do Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Arlindo Leal Boiça Júnior e Professora Auxiliar da Universidade Estadual do Maranhão-Câmpus Grajaú (2014-Atual), desenvolvendo trabalhos na área de Entomologia.

*“Os que confiam no Senhor, são como o monte Sião,  
que não se abala, firme para sempre”.*

*Salmos: cap. 125, v.1*

## **DEDICO**

À minha mãe adorável, Hildete Garcez dos Santos.

Símbolo de amor, compreensão e luta.

## **OFEREÇO**

À toda minha família.

Pelo incentivo e apoio ao longo de todos esses anos.



## AGRADECIMENTOS

À Deus por estar sempre presente em minha vida, em todos os instantes, e me conceder muitas bênçãos.

Ao professor e orientador, Dr. Arlindo Leal Boiça Junior, que me recebeu e me adotou como mais um dos integrantes da família chamada “Laboratório de Resistência de Plantas-FCAV/UNESP e, principalmente por ter me dedicado tempo, orientação, atenção e compreensão em todos os momentos que precisei.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão de bolsa de estudos na modalidade de doutorado.

À Empresa Biocontrol sediada no município de Sertãozinho-SP, principalmente na figura da coordenadora de produção, Maria do Carmo de Laurentiz Almeida, pela disponibilização de larvas e posturas de *Diatraea saccharalis*.

Aos meus pais, Gideone da Silva Lopes e Hildete Garcez dos Santos, que fizeram esforços imensos para me conceder educação e oportunidade.

Ao meu grande amigo, companheiro e esposo, Luiz Junior Pereira Marques, por ter participado em todos os momentos dessa difícil caminhada, dividindo momentos ruins e compartilhando alegrias.

Às minhas maravilhosas irmãs: Ilderlange da Silva Lopes, Ilderlane da Silva Lopes e Ilderlene da Silva Lopes, pelas alegrias e cumplicidades próprias.

Aos meus irmãos: Gidean da Silva Lopes e Gildeone da Silva Lopes e sobrinho, Ismar Marques Garcez pelo apoio e ajuda.

Ao restante da família que cresceu: Flavio Nunes Pereira, Gleyce Kelle Linhares Lopes, Gabriel Linhares Lopes, Isaac Linhares Lopes, Nicolas Flael Lopes Nunes e Lídia de Jesus Bandeira Pereira, que contribuíram com força e carinho.

À grande companheira, parceira de laboratório e amiga, Flávia Queiroz de Oliveira.

Ao grande amigo e técnico exemplar, Zulene Antônio Ribeiro, que sempre teve disposição e prestatividade.

Ao amigo e companheiro das viagens, Renato Franco Oliveira de Moraes, pela colaboração.

Aos colegas de laboratório: Eduardo Neves Costa, Marília Lara Peixoto, Bruno Henrique Sardinha de Souza, Mirella Marconato Di Bello, Wellington Ivo Eduardo, pela convivência agradável.

Aos amigos Diego Felisbino Fraga e Leandro Aparecido de Souza, pela amizade e carinho.

À sempre atenciosa, Lígia Dias Fiorezzi, pelo empenho em ajudar.

À amiga de trabalho e companheira de viagem, Elba Pereira Chaves pelo apoio e incentivo.

À todos os gestores, professores e colaboradores do Centro de Estudos Superiores de Grajaú – CESGRA, pela compreensão e boa vontade, principalmente na pessoa da Prof<sup>a</sup> Iracilda Falcão.

E aos acadêmicos do Curso de Zootecnia do Centro de Estudos Superiores de Grajaú – CESGRA, pela espera e compreensão.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Tabelas</b> .....	xiii
<b>Lista de Figuras</b> .....	xvii
<b>Resumo</b> .....	xx
<b>Abstract</b> .....	xxi
<b>CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais</b> .....	1
<b>1. 1 Introdução</b> .....	1
<b>1. 2 Revisão Bibliográfica</b> .....	3
1. 2. 1 Distribuição Geográfica e Hospedeiros de <i>Diatraea saccharalis</i> .....	3
1. 2. 2. Aspectos Biológicos de <i>Diatraea saccharalis</i> .....	4
1. 2. 3 Danos de <i>Diatraea saccharalis</i> e Importância Econômica.....	6
1. 2. 4 Controle Químico .....	7
1. 2. 5 Controle Biológico .....	8
1. 2. 6 Resistência de Plantas.....	10
1. 2. 7 Uso da Tecnologia Bt ( <i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner) .....	11
<b>Referências</b> .....	14
<b>CAPÍTULO 2 – Não preferência alimentar de <i>Diatraea saccharalis</i> por milho convencional e transgênico</b> .....	21
<b>Resumo</b> .....	21
<b>Abstract</b> .....	22
<b>2. 1 Introdução</b> .....	22
<b>2. 2 Material e Métodos</b> .....	24
<b>2. 3 Resultados e Discussão</b> .....	26
<b>2. 4 Conclusões</b> .....	39
<b>Referências</b> .....	39
<b>CAPÍTULO 3 – Não preferência alimentar de <i>Diatraea saccharalis</i> em milho convencional e transgênico e efeitos da idade das plantas</b> .....	43
<b>Resumo</b> .....	43
<b>Abstract</b> .....	44

<b>3. 1 Introdução .....</b>	<b>45</b>
<b>3. 2 Material e Métodos .....</b>	<b>47</b>
<b>3. 3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>50</b>
<b>3. 4 Conclusões.....</b>	<b>63</b>
<b>Referências .....</b>	<b>64</b>
<b>CAPÍTULO 4 – Resistência, na categoria antibiose, de cultivares de milho convencional e transgênico à <i>Diatraea saccharalis</i>.....</b>	
<b>Resumo .....</b>	<b>69</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>70</b>
<b>4. 1 Introdução .....</b>	<b>71</b>
<b>4. 2 Material e Métodos .....</b>	<b>73</b>
<b>4. 3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>77</b>
<b>4. 4 Conclusões.....</b>	<b>86</b>
<b>Referências .....</b>	<b>87</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 2 – Não preferência alimentar de <i>Diatraea saccharalis</i> em colmos e folhas de milho convencional e transgênico.....</b>	<b>21</b>
<b>Tabela 1.</b> Cultivares convencionais e transgênicas de milho utilizadas em testes de não preferência para alimentação de <i>Diatraea saccharalis</i> , Jaboticabal/SP. 2012.....	<b>24</b>
<b>Tabela 2.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho convencional, em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012.....	<b>27</b>
<b>Tabela 3.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho transgênico em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.....	<b>30</b>
<b>Tabela 4.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho convencional em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.....	<b>34</b>
<b>Tabela 5.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho transgênico em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.....	<b>36</b>

<b>Tabela 6.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> recém-eclodidas atraídas por folhas de cultivares de milho convencional e transgênico e porcentagem de dano em testes com e sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012.....	38
---	----

<b>CAPÍTULO 3 – Não preferência para alimentação de <i>Diatraea saccharalis</i> comparando milho convencional e transgênico e efeitos da idade das plantas.....</b>	<b>43</b>
---	-----------

<b>Tabela 1.</b> Cultivares de milho convencionais e transgênicas utilizadas nos testes comparando a não preferência para alimentação de <i>Diatraea saccharalis</i> . Jaboticabal/SP.2012/2013.....	48
--	----

<b>Tabela 2.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por cultivares de milho convencionais e transgênicas em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.....	51
---	----

<b>Tabela 3.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho convencionais e transgênicas em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.....	54
---	----

<b>Tabela 4.</b> Número médio de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> recém-eclodidas atraídas por folhas de cultivares de milho convencionais e transgênicas e, porcentagem de dano em testes com e sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.....	58
---	----

**Tabela 5.** Número médio de lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 72 horas após sua liberação, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 60

**Tabela 6.** Massa seca de colmo consumida (mg) por larvas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, em cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 144 horas após sua liberação, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2013..... 61

**Tabela 7.** Número médio de lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 72 horas após sua liberação, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 61

**Tabela 8.** Massa seca de colmo consumida (mg) por larvas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, em cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 144 horas após sua liberação em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 62

**CAPÍTULO – 4. Resistência, na categoria antibiose, de cultivares de milho convencional e transgênico à *Diatraea saccharalis* ..... 69**

**Tabela 1.** Médias dos pesos (mg) de lagartas de *Diatraea saccharalis* com 16 dias e 21 dias de idade, alimentadas com cultivares de milho e duração (dias) do período larval. Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 78

**Tabela 2.** Médias dos pesos (mg) de pupas de *Diatraea saccharalis* que foram alimentadas com cultivares de milho e duração do período pupal. Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 81

- Tabela 3.** Números médios de ovos, postura e de ovos por postura e viabilidade de ovos (%) de adultos de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2013..... 83
- Tabela 4.** Médias da longevidade (dias) de adultos de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho e duração (dias) do ciclo de larva-adulto. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 84
- Tabela 5.** Viabilidade larval, pupal e de adultos de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP.2012/2013..... 85



## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO 2 – Não preferência alimentar de <i>Diatraea saccharalis</i> por milho convencional e transgênico.....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 1.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho convencional, em teste com chance de escolha.....	28
<b>Figura 2.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho transgênico em teste com chance de escolha.....	31
<b>Figura 3.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho convencional, em teste sem chance de escolha.....	35
<b>Figura 4.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho transgênico, em teste sem chance de escolha.....	37
<b>CAPÍTULO 3 – Não preferência para alimentação de <i>Diatraea saccharalis</i> comparando milho convencional e transgênico e efeitos da idade das plantas.....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 1.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho convencionais e transgênicas, em teste com chance de escolha.....	53

<b>Figura 2.</b> Regressão polinomial da preferência larval de <i>Diatraea saccharalis</i> por cultivar de milho convencionais e transgênicas, em teste sem chance de escolha.....	56
<b>CAPÍTULO – 4. Resistência, na categoria antibiose, em cultivares de milho convencional e transgênico à <i>Diatraea saccharalis</i> .....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 1.</b> Lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> individualizadas em copos plásticos utilizadas no experimento de antibiose. Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.....	74
<b>Figura 2.</b> Folhas de cultivares de milho convencionais e transgênicas após assepsia e dispostas para secagem em papel toalha. Jaboticabal/SP.2012/2013.....	74
<b>Figura 3.</b> Colmos de milho para alimentação de larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> (A) e corte longitudinal para facilitar a troca de alimento (B). Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.....	75
<b>Figura 4.</b> Casal de adultos de <i>Diatraea saccharalis</i> (A) e folhas de papel sulfite retiradas de gaiolas contendo posturas em diferentes estágios de coloração (B). Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; Fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/ 2013.....	76
<b>Figura 5.</b> Amostras de colmos de milho convencionais e transgênicas moídas para análise de fenóis totais e lignina. Jaboticabal/SP. 2013.....	77
<b>Figura 6:</b> Porcentagem de fenóis totais e lignina em massa seca de colmos de milho convencionais e transgênicas. Jaboticabal/SP. 2012/2013. ....	79

**Figura 7.** Porcentagem de pupas deformadas de *Diatraea saccharalis* oriundas de alimentação em diferentes cultivares de milho convencionais. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013..... 82

## RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO

### À *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

**RESUMO** – A broca do colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), é um lepidóptero que ocasiona danos em diversas gramíneas como cana-de-açúcar, milho, sorgo e arroz. Todavia, poucas são as informações relacionadas ao uso de fontes de resistências dessa broca na cultura do milho para condições brasileiras. Assim, objetivou-se determinar o comportamento de *D. saccharalis* em cultivares de milho convencional e transgênico quanto a não preferência para alimentação e antibiose. Os experimentos foram conduzidos no período de agosto/2011 a julho/2013 com plantios de milho em casa de vegetação, localizada em área pertencente à Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção e no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/UNESP, Campus Jaboticabal. Cultivares de milho convencionais e transgênicas foram avaliadas quanto ao comportamento de alimentação em testes com e sem chance de escolha, ambos com duração de 24, 48 e 72 horas. Em seguida, foram avaliados os efeitos da idade da planta na preferência alimentar de e a antibiose destas cultivares. Os dados foram transformados, quando necessário, para respeitar a curva de normalidade e, em seguida, foi realizada análise de variância das médias. Os resultados dos testes de preferência alimentar em cultivares de milho convencionais e transgênicas, separadamente, indicaram que lagartas com 15 dias de idade consomem igualmente as cultivares convencionais, em testes com e sem chance de escolha. No entanto, lagartas recém-eclodidas proporcionam menor dano na cultivar convencional 2B 587 em teste sem chance de escolha e as cultivares de milho transgênico SX8330 TL TG, DAS 2B707 HX, P 3646 HX, BG 7049 YG, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO proporcionam menores porcentagens de dano para lagartas recém-eclodidas de *D. saccharalis*. Para os testes envolvendo cultivares de milho convencionais e transgênicas, simultaneamente, a cultivar SHS 7780 é suscetível e as cultivares DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707 apresentam resistência na categoria não preferência para alimentação à *D. saccharalis*. Na avaliação do efeito da idade das plantas, em geral as cultivares transgênicas: DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707, são menos atrativas e consumidas em idade de 45 dias e, mais consumidas aos 70 dias. Quanto aos resultados para os estudos de antibiose, a cultivar de milho convencional AG 7088 mostra-se moderadamente resistente na categoria antibiose por apresentar pupas deformadas, menor número de ovos por fêmea e menor viabilidade de ovos. As cultivares convencionais AG 7088 e AG 5055 apresentam maiores teores de fenóis totais e as transgênicas DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO são altamente resistentes na categoria antibiose.

**Palavras-Chave:** Broca do colmo, Resistência de plantas, *Zea mays*, Milho Bt

## RESISTANCE OF CONVENTIONAL AND TRANSGENIC MAIZE CULTIVARS

*Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

**ABSTRACT** – *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) is a lepidopteran that causes damage in several grasses such as sugar cane, maize, sorghum and rice. However there is little information regarding the use of resistance sources this borer in maize to Brazilian conditions. Thus this study aimed to determine the behavior of *D. saccharalis* in cultivars of transgenic and non-transgenic maize as feeding preference and antibiosis. The experiments were conducted between July 2011 to August 2013 with planting maize in a greenhouse in the area belonging to the Farm for Teaching, Research and Production and Laboratory of Plant Resistance to Insects, Department of Crop Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Veterinary FCAV / UNESP, Jaboticabal. Conventional and transgenic cultivars were evaluated for feeding behavior in tests with multiple and non-choice tests on these time: 24, 48 and 72 hours. Soon after these results were evaluated the effects of plant age on food preference and antibiosis these cultivars. The data were transformed, if necessary, to maintain the curve of normality and then analysis of variance to the means. Results of feeding preference in conventional and transgenic cultivars tests separately indicated that caterpillars with 15 days old also consumed conventional maize cultivars in tests with multiple and non-choice. However, newly hatched caterpillars provided less percentage of damage in conventional farming 2B 587 in non-choice test and, transgenic maize cultivars SX8330 TL TG, DAS 2B707 HX, P 3646 HX, BG 7049 YG, DKB 789 YG and DKB 390 VTPRO provided the lowest ratings of damage symptoms to newly-hatched larvae of *D. saccharalis*. For tests involving transgenic and conventional cultivars simultaneously, was observed that SHS 7780 cultivar is susceptible and the cultivars DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG and DAS 2B 707 showed resistance in the category feeding preference on *D. saccharalis*. On the evaluation of the age effect of plants, in general the transgenic cultivars DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO are less attractive on 45 days old and the most consumed was on 70 days old. Regarding the results for studies of antibiosis, the conventional maize cultivar AG 7088 shows up moderately resistant category antibiosis due to its higher percentage of deformed pupae, fewer eggs per female and lower viability of eggs. Conventional cultivars AG 7088 and AG 5055 showed highest levels of total phenols and transgenic DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO are highly resistant in the antibiosis category.

**Keywords:** Sugarcane borer, Plant resistance, *Zea mays*, Bt maize

## CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

### 1. 1 Introdução

A produção da cultura do milho, na safra 2012/13, da apresentou em nível nacional, um incremento de 3,2% quando comparado com o resultado da safra anterior, atingindo montante de 78,6 milhões de toneladas. As regiões que concentraram essa produção foram a Centro-Oeste tendo o estado do Mato Grosso como maior produtor (18.419,4 mil toneladas) e Sul com o estado do Paraná (17.978,2 mil toneladas), ambas obtendo bons resultados tanto na 1ª safra quanto na 2ª safra (CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, 2013).

Apesar do excelente cenário agrícola do setor, a broca do colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), tão comumente associada aos canaviais brasileiros, assumiu nos últimos anos relevância aos produtores de arroz e milho do país. Tal mudança no hábito alimentar dessa praga, tem direcionado novas pesquisas quanto ao comportamento e biologia desse inseto, exigências nutricionais e térmicas, controle alternativo, dentre outras que são necessárias para auxiliar o produtor no manejo desse lepidóptero. Uma vez que, *D. saccharalis*, ao se instalar no plantio e penetrar nos colmos, os danos podem ser severos, pois os produtos químicos não conseguem alcançar a broca, que se aloja dentro das galerias formadas nos colmos. Assim, as perdas em rendimentos do milho têm sido atribuídas a um aumento da esterilidade, redução no tamanho da espiga e do grão, além de interferência na colheita mecânica (CRUZ, 2007; SOUZA, 2013).

Ferreira et al. (2001) relacionaram os prejuízos que *D. saccharalis* causa à cultura do arroz como dependente da intensidade do ataque, isto é, do número de corações-mortos e de panículas-brancas provocadas nas culturas. Dinardo-Miranda et al. (2013) revelam também uma tendência das cultivares atuais de cana-de-açúcar serem mais suscetíveis à broca, provavelmente devido ao melhoramento

genético que, em busca de cultivares mais produtivas e ricas em açúcar, selecionou àquelas mais suscetíveis à praga.

Outras técnicas de controle como o uso de plantas resistentes ou mesmo transgênicas pela tecnologia Bt são utilizadas para minimizar os prejuízos provocados pela broca do colmo e outros lepidópteros. Romeis et al. (2008) mostraram que o milho geneticamente modificado com o gene expressando a proteína Cry 1Ab de *Bacillus thuringiensis* (Berliner), controla insetos da ordem Lepidoptera, não afetando insetos de outras ordens. Outra pesquisa nesse enfoque foi realizada por Sidhu, Stout e Blouin (2013), que avaliaram a preferência para oviposição de *D. saccharalis* em oito cultivares convencionais de arroz e, constataram ser de 50-60% menor em cultivares resistentes.

A resistência pode ser assim atribuída a diversos fatores tais como: idade da planta, textura, balanço de nutrientes, presença de competidores ou predadores e de substâncias repelentes, fatores esses que podem influenciar na maior ou menor aceitação do inseto em ovipositar ou alimentar-se. Para Daves, Williams e Davis (2007), há muitas maneiras em que as plantas podem se defender contra o ataque de insetos. Defesas de plantas hospedeiras são categorizadas tanto por características bioquímicas ou morfológicas das plantas. As plantas que expressam a resistência a uma praga específica ou uma série de pragas podem possuir uma ou ambas as categorias de traços fenotípicos.

Dessa forma, a resistência de plantas a insetos tem sido considerada como uma medida de controle econômica e conveniente, durável, inócua, e também compatível com outras táticas de manejo, portanto, deve-se enfatizar o uso e desenvolvimento de cultivares resistentes à broca do colmo (SIDHU; STOUT; BLOUIN, 2013). Vale ressaltar que a utilização da resistência de plantas requer pesquisas complementares, onde se identifique as fontes de resistência, as categorias de resistência envolvidas e os níveis dessa resistência. Todas essas informações ajudarão a compor e melhorar essa medida de controle.

As limitações que podem existir no uso dessa tecnologia para *D. saccharalis* estão relacionadas principalmente ao uso indiscriminado da tecnologia Bt e ao desrespeito aos plantios de refúgio, o que pode ocasionar em pouco tempo, a ineficácia desse método devido ao desenvolvimento de alelos de resistência nas

populações dessa broca. Araújo et al. (2011) relacionaram que o uso de cultivares de milho convencionais e transgênicas (Bt), de mesmo ciclo e porte e simultaneamente, propiciam uma área de refúgio, com a finalidade de evitar o efeito de resistência de insetos, devido ao cruzamento das diferentes populações. Fato relevante, uma vez que em pesquisa de Huang, Leonard e Andow (2007) foi abordado que a tolerância natural de *D. saccharalis* à proteína Cry 1Ab pode permitir um maior número de mecanismos genéticos para exibir resistência em milho Bt.

Nesse âmbito, objetivou-se avaliar as categorias de resistência por não preferência para alimentação e antibiose em cultivares de milho convencional e transgênico à *D. saccharalis*.

## 1. 2 Revisão Bibliográfica

### 1. 2 .1 Distribuição Geográfica e Hospedeiros de *Diatraea saccharalis*

A broca da cana, *D. saccharalis*, é nativa do hemisfério ocidental, sendo que nos Estados Unidos foi introduzida na Louisiana em 1855, e desde então se espalhou para a Costa do Golfo do México, habitando apenas as partes mais quentes destes Estados. Esta broca também ocorre em todo o Caribe, América Central e nas porções mais quentes da América do Sul e no norte da Argentina (CAPINERA, 2001).

A broca do colmo é considerada praga chave da cultura da cana-de-açúcar, embora ocasione também prejuízos nas culturas do sorgo, milho, milheto, arroz e trigo. Além dessas gramíneas de forte expressão agrícola, esta broca é favorecida pela ampla diversidade de hospedeiros alternativos. Dentre as espécies que podem servir como hospedeiros alternativos para *D. saccharalis* tem-se: *Avena sativa* L. (aveia), *Arundo donax* L. (cana da Índia), *Echinochloa* spp. (capim arroz), *Echinochloa polystachya* (H. B. K.) Hitch (capim canarana), *Brachiaria purpuracens* Henr. (capim D'Angola), *Paspalum urvillei* Stend (capim-da-roça), *Penisetum purpureum* Schum. (capim elefante), *Brachiaria plantaginea* Link (capim guatemala), *Panicum maximum* Jacq.(capim guiné), *Sorghum halepense* (L.) Pers. (capim



massambará), *Leptochloa filiformis* (Lam.) Beauv. (capim mimoso), *Paspalum conjugatum* P. J. Bergius (capim roxo), *Paspalum repens* Berg. (Perimembeca), *Sorghum arundinacum* (Wild) Stapf. (sorgo silvestre), *Cyperus rotundus* L. (tiririca), *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash (capim vetiver) (FERREIRA et al., 2001).

*Diatraea saccharalis* é a principal praga dos plantios de milho, sorgo e cana-de-açúcar na América Latina (MOREÉ; TRUMPER; PROLA, 2003). Na Argentina, é a principal praga no cultivo do milho (SERRA; TRUMPER, 2006). No Sudeste dos EUA, a broca do colmo está entre as mais importantes pragas do arroz (SIDHU; STOUT; BLOUIN, 2013).

### 1. 2. 2 Aspectos Biológicos de *Diatraea saccharalis*

A Ordem Lepidoptera impulsiona no país e no mundo, importante setor de pesquisas, uma vez que possui grande número de espécies que ocasionam prejuízos à diversas culturas, tais como cana-de-açúcar, tomate, couve, amendoim, milho, feijão, arroz, sorgo (BORTOLI et al., 2005; CAMPOS, 2009; CRUZ, 2007; DINARDO-MIRANDA et al., 2012; FERNANDES, 2003; FERREIRA et al., 2004; LEITE, 2004; TAGLIARI, 2007). Dentre alguns dos lepidópteros pragas das gramíneas, a broca do colmo é responsável por perdas significativas na produção agrícola durante seu desenvolvimento dentro dos colmos (CRUZ, 2007; FERREIRA et al., 2004).

Pinto, Cano e Santos (2006) relataram que em campo, as posturas de *D. saccharalis* contém de 5 a 50 ovos, podendo cada fêmea colocar de 300 a 600 ovos durante toda a vida, dependendo da época do ano e da temperatura. Souza, Ávila e Parra (2001) em pesquisa de laboratório também relataram a importância da temperatura no ciclo de vida de *D. saccharalis*, no qual a temperatura mais adequada para criação massal foi de 30°C.

Além das exigências térmicas que podem interferir no ciclo biológico dessa broca, pode-se acrescentar o aspecto nutricional do alimento ingerido, que varia de acordo com o hospedeiro. Em pesquisa de Oliveira et al. (2010), as lagartas passam por 6 estádios larvais, num ciclo de 30 dias, permanecendo no colmo até

completarem o desenvolvimento e se transformarem em crisálidas, na cultura do arroz. Já em pesquisa de Costa, Coelho e Francez e Rigolin-Sá (2010) o ciclo biológico da espécie (ovo-adulto) em dieta artificial à base de farelo de soja e germe de trigo, ocorre em média de 46,21 dias.

Estudos que avaliem o ciclo biológico dos insetos em determinadas condições de temperatura ou alimento contribuem para esclarecer os possíveis fatores que interferem negativamente na sua biologia (resistência da planta) (BOIÇA JÚNIOR; LEONELO; JESUS, 2011; SILVEIRA; VENDRAMIM; ROSSETTO, 1997; SOUZA; ÁVILA; PARRA, 2001), possibilitando assim, a exploração desses efeitos adversos para controlar a praga, ou mesmo reduzir seus danos na cultura.

De maneira análoga, a adubação das plantas também pode interferir nos aspectos biológicos de *D. saccharalis* conforme pesquisa de Bortoli et al. (2005), que comprovaram maior período larval (91,62 dias) e menor peso larval (54,40 mg) quando a dose de adubação aplicada foi de 0 ppm de nitrogênio (N) e 200 ppm de potássio (K); observando uma tendência de doses menores de N proporcionarem menor porcentagem de dano e doses mais elevadas de K aumentarem o período de desenvolvimento das lagartas.

A idade da cultura representa outro fator que pode influenciar a biologia dos insetos. Em pesquisa de Moré, Trumper e Prola (2003), que visaram identificar a preferência de oviposição de *D. saccharalis* pelas fases fenológicas, superfície foliar e distribuição vertical em plantas de milho, concluíram que seus ovos foram colocados nas partes inferiores das folhas, situadas no estrato médio das plantas e, cujos estágios fenológicos eram posteriores ao V10. Ainda em suas observações declararam que o número médio de massas de ovos por planta foi baixo ou nulo em plantas em estádios fenológicos anteriores ao V9.

Cada um dos aspectos apresentados contribui para o conhecimento detalhado do comportamento biológico desse lepidóptero, que pode apresentar variações no período larval de 20 a 79 dias, na fase pupal de 6 a 14 dias e longevidade de adultos entre 2 a 9 dias (PINTO; CANO; SANTOS, 2006), representando várias gerações por ano e elevado poder de destruição nas lavouras.

O conhecimento de tais aspectos biológicos, em determinadas situações e com diferentes hospedeiros permite-nos interceder de maneira efetiva no ciclo da

praga, reduzindo o uso de produtos químicos e explorando melhor as tecnologias existentes para seu controle, como a resistência de plantas e/ou o controle biológico (VACARI; OTUKA; BORTOLI, 2007; ).

### 1. 2. 3 Danos de *Diatraea saccharalis* e Importância Econômica

O dano da broca da cana-de-açúcar em milho foi descrito pela primeira vez por Flynn e Reagan (1984) e Flynn, Reagan e Ogunwolu (1984). Daí em diante tornou-se necessário desenvolver pesquisas e aprimorar métodos para garantir a redução desses danos, com alteração nas práticas de cultivo e colheita, interação entre técnicas de controle, monitoramento, dentre outras.

*Diatraea saccharalis* possui elevado poder destrutivo, já que pode atacar diversas partes da planta, assim, o colmo pode ser seccionado ou broqueado; as folhas raspadas e/ou destruídas; pode destruir a gema apical, provocando o sintoma conhecido como "coração morto"; atacar partes do pendão; o pedúnculo da espiga e a própria espiga, alimentando-se dos grãos ou broqueando o sabugo (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004). Conforme Serra e Trumper (2006), na região dos Pampas da Argentina, *D. saccharalis* é a praga de maior impacto no cultivo do milho pelos danos que provoca, caracterizados como danos fisiológicos (diminuição do fluxo de água e nutrientes) e mecânicos ( quebra dos colmos e queda das espigas). Em condições brasileiras, *D. saccharalis* tem causado preocupação aos produtores de milho pela alta incidência e dano, seja em áreas próximas ou distantes da cana-de-açúcar, sugerindo uma melhor adaptação desta praga aos híbridos de milho utilizados atualmente, ou devido ao sistema de produção predominante em uma determinada região (SOUZA, 2013).

Ao atacarem o interior do colmo da planta, as larvas de *D. saccharalis* ocasionam danos que podem acarretar perdas entre 10 e 50% nos rendimentos. As maiores perdas são advindas de ataques nos entrenós mais próximos à espiga, pois produzem interferência na circulação de nutrientes elaborados pela planta, que são carreados para uma maior produção de folhas, em vez da produção de grãos, em comparação com os ataques verificados nos entrenós mais distantes (CRUZ, 2007).

Ainda em se tratando de danos, existem aqueles tidos como indiretos, uma vez que através dos orifícios e galerias provocados pela praga, ocorre a penetração de fungos que causam a podridão vermelha do colmo, na qual pode abranger toda a região com galerias. Esses fungos causadores da podridão vermelha são *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium moniliforme* Sheldon, e provocam a inversão da sacarose, diminuição da pureza do caldo e provoca contaminações no processo de fermentação alcoólica, dando menor rendimento em açúcar e álcool (BOIÇA JUNIOR; LEONELO; JESUS, 2011; GALLO et al., 2002). A quantidade e a pureza do suco que pode ser extraído da cana são reduzidas pela presença da praga, pois o rendimento da sacarose pode ser diminuído em 10 a 20% (CRUZ, 2007).

#### 1. 2. 4 Controle Químico

O controle de insetos pragas consiste numa etapa crucial da produção agrícola, onde adotar a medida correta e eficaz representa economia financeira e ambiental. No caso de lepidópteros, que normalmente são fitófagos na fase larval e favorecidos por grande disponibilidade de hospedeiros alternativos o ano todo, torna-se necessária a adoção de diversas táticas para reduzir o nível de dano econômico dessas pragas, principalmente como ocorre com *D. saccharalis* (PANIZZI; PARRA, 2009).

O tradicional controle químico pode ser utilizado para diminuir os prejuízos oriundos da presença de *D. saccharalis* no campo, entretanto tende a tornar-se pouco eficiente devido ao hábito alimentar da lagarta de permanecer a maior parte de seu desenvolvimento dentro dos colmos da planta. Assim, o controle químico deve ser evitado, uma vez que o impacto ambiental causado pela aplicação de agroquímicos em grandes áreas é significativo (PINTO; CANO; SANTOS, 2006). Contudo, apesar dos efeitos indesejados e da pouca eficiência dos químicos, existem 34 produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, dentre os quais estão inclusos os grupos químicos das antranilamida, benzoiluréia, metilcarbamato, pirazol, piretróide + neonicotinoide. Já em ataques proporcionados à

cultura do milho, a praga só possui dois produtos registrados do grupo da lambdacialotrina (piretróide) (AGROFIT, Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2013).

### 1. 2. 5 Controle Biológico

O controle biológico em *D. saccharalis* na cana-de-açúcar representa maior relevância e sucesso no plano de controle dessa praga, uma vez que devido aos seus hábitos alimentares, esta permanece protegida da ação dos agrotóxicos por sucessivos plantios. Assim, o uso de predadores, parasitóides e/ou organismos entomopatogênicos permite a interrupção do ciclo desse lepidóptero, qualificando-os como importante técnica para redução dos danos provocados pela broca nos campos agrícolas (PARRA et al., 2002).

Sánchez, Pollack e Quispe (1991) avaliaram a eficiência de parasitismo de *Paratheresia claripalpis* (Wulp, 1896) (Diptera: Tachinidae) sobre larvas de *D. saccharalis* e obtiveram parasitismo médio de 3-4 larvas, relativamente inferior a *Lixophaga diatraea* (Townsend, 1916) (Diptera: Tachinidae) em Cuba. Ramón et al. (2008) relataram que o método mais eficaz de controlar esta praga é a utilização de parasitóides, sendo o mais bem sucedido, a mosca amazônica *Lidella* (= *Metagonistylum*) *minenese* (Townsend, 1927) a qual, no entanto, apresentou-se muito específica atacando quase exclusivamente a *D. saccharalis*, ocasionando um declínio desta espécie e o aumento de outras espécies de lepidópteros.

No Brasil, o controle biológico de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar utilizando o himenóptero *C. flavipes* representa o maior e mais efetivo programa de controle biológico já implantado no país, onde várias empresas privadas promovem a criação e comercialização desse inimigo natural em larga escala. Além, de instituições de pesquisa e de ensino que atuam no aprimoramento e melhoria das informações voltadas ao funcionamento dos programas de controle biológico (BOTELHO; MACEDO, 2002).

A associação dos parasitóides *C. flavipes* e *Trichogramma* sp. tem garantido excelente controle, visto que estes atuam em diferentes fases do desenvolvimento da praga. Pinto, Cano e Santos (2006) revelaram que três liberações semanais

consecutivas de *T. galloi* e uma de *C. flavipes* acarretam uma diminuição superior a 60% no índice de intensidade de infestação causado pela broca do colmo. Este parasitoide apresenta eficiência em outras espécies de broca que são comuns no nordeste brasileiro como *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) conforme avaliação de Silva et al. (2012) que questionaram a preferência de *C. flavipes* pela broca e concluíram que o mesmo não demonstrou preferência entre *D. saccharalis* e *D. flavipennella*, parasitando ambas as espécies.

Cruz et al. (2011) encontraram em associação com a broca do milho a espécie *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae), que pode ser uma opção adicional para o manejo integrado de pragas nos cultivos onde o inseto é uma praga-chave, como a cana de açúcar, milho e sorgo.

Além da utilização de parasitóides, pode-se promover o controle com insetos predadores conforme pesquisa de Macedo e Araújo (2000) que registraram dentre outros insetos predadores, *Selenophorus* sp. e *Doru lineare* (Eschscholtz, 1822) (Dermaptera: Forficulidae), como os mais frequentes em armadilha luminosa associados a predação de *D. saccharalis* em canavial submetido à queima ou não. Castro et al. (2011) relataram que *Coleomegilla maculata* (Degeer, 1775) (Coleoptera: Coccinellidae) pode ser utilizada na fase inicial de infestação para supressão de posturas de *D. saccharalis* na cana-de-açúcar e/ou no milho.

Outra possibilidade no controle dessa praga é a aplicação de produtos biológicos como fungos e bactérias. Em pesquisa de Oliveira et al. (2008) foi avaliado os efeitos dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., em diferentes concentrações, sobre parâmetros biológicos de *D. saccharalis*. Em seus resultados constataram que os fungos ocasionaram mortalidade larval e pupal, além de comprometerem características biológicas determinantes para o sucesso de *D. saccharalis* como praga, tais como longevidade, fecundidade e viabilidade de ovos. Nessa percepção, deve-se priorizar produtos biológicos de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), *B. thurigiensis* e *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que já são produzidos em larga escala e podem ser utilizados pelos agricultores.

### 1. 2. 6 Resistência de Plantas

O uso de plantas resistentes como mecanismo de controle de insetos pragas tem sido praticado amplamente no país devido à grande compatibilidade com outras táticas de controle, à facilidade de implantação e a inexistência de contaminação humana e ambiental. Contudo, apesar das vantagens associadas a essa tecnologia, Boiça Junior, Lara e Bellodi (1997) ressaltaram que táticas como resistência de plantas à insetos e o controle biológico podem ser antagonistas e é importante o estudo dessa interação a fim de evitar efeitos negativos na utilização destas táticas em campo.

Desta forma, pesquisas têm sido voltadas a esclarecer fontes de resistências e interações entre plantas e insetos (CAMARGO et al., 2010; CARVALHO; MORAES; CARVALHO, 1999; FRIZZAS; CUNHA; MACEDO, 2004; GOUSSAIN et al., 2002; LEITE, 2004; MORAES; FERREIRA; COSTA, 2009), pois dependendo do estado nutricional e fenológico das plantas, das condições climáticas em que estão inseridas, do potencial biótico da praga, dentre outros, a resistência pode ou não manifestar-se.

Em condições brasileiras, ainda são escassas as pesquisas realizadas nesse enfoque voltadas a *D. saccharalis*, todavia Martins (1983) investigou fontes de resistência em algumas cultivares de arroz à broca do colmo e, associou-as com características bioquímicas e biofísicas das plantas e, obteve fontes de resistência na categoria antibiose, que ocorre quando o inseto se alimenta normalmente da planta e esta exerce efeito negativo em um ou mais parâmetros de sua biologia e/ou desenvolvimento.

Ferreira et al. (2004) e Nascimento et al. (2010) também pesquisaram o comportamento de variedades de arroz sob o ataque de *D. saccharalis*, selecionando materiais resistentes à esse lepidóptero, acompanhando o desenvolvimento das brocas após infestação em telados.

Dinardo-Miranda et al. (2012) que avaliaram a preferência de oviposição de *D. saccharalis* e o efeito de dez cultivares de cana-de-açúcar no desenvolvimento larval. Em suas avaliações concluíram que, as cultivares menos preferidas foram

IACSP94-2101 e IACSP96-2042 e, a mais desfavorável a entrada e ao desenvolvimento das lagartas no interior dos colmos foi IACSP94-2094, apresentando resistência a praga. Ainda segundo Dinardo-Miranda et al. (2013), apesar da importância econômica de *D. saccharalis*, são raras as informações quanto à manutenção da resistência contra o inseto nas cultivares utilizadas no Brasil.

No entanto, pesquisas avaliando especificamente *D. saccharalis* em genótipos de milho são menos frequentes no país, uma vez que a maioria dos trabalhos referenciados é oriunda de outras nacionalidades e a resistência vem associada a utilização de *B. thuringiensis* (HUANG; LEONARD; ANDOW, 2007; WANGILA, 2012; WU et al., 2009) ou a outra praga alvo como a lagarta-do-cartucho (FERNANDES et al., 2003; WAQUIL et al., 2002). É necessário compreender que a habilidade de determinado genótipo agregar uma ou mais respostas de defesa é variável e sua real identificação requer pesquisas aprofundadas e complementares, pois as respostas são diferenciadas em cada genótipo e em cada praga avaliada.

Nesse sentido, Souza (2013) realizou pesquisa avaliando a suscetibilidade de *D. saccharalis* à proteína inseticida Cry 1F em diferentes estádios fenológicos do milho e enfatizou a importância do monitoramento da suscetibilidade dos insetos pragas ao uso da tecnologia Bt, possibilitando a diminuição da evolução da resistência dos insetos e permitindo maior durabilidade da técnica.

Outras pesquisas precisam ser desenvolvidas a fim de determinar possíveis fontes de resistência assim como devem vir acompanhadas de observações das características morfológicas e/ou bioquímicas das plantas ou mesmo com avaliações da atratividade.

#### 1. 2. 7 Uso da Tecnologia Bt (*Bacillus thuringiensis* Berliner)

A transformação genética dos vegetais permite a introdução de genes específicos em genomas alvo, e está sendo muito empregada no desenvolvimento de novos cultivares comerciais. Esta tecnologia tem auxiliado nos programas de melhoramento, uma vez que possibilita a transferência de genes entre plantas de



espécies não relacionadas, fato que não ocorre por meio de cruzamentos convencionais (PINTO; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2011). Dentre as inúmeras aplicações de tais técnicas, pode-se destacar a geração de plantas com características que conferem resistência a insetos praga (FRIZZAS; CUNHA; MACEDO, 2004).

O milho geneticamente modificado, resistente a insetos, foi originalmente desenvolvido para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hubner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae), uma importante praga do colmo do milho nos EUA (FERNANDES, 2003). No Brasil, a liberação comercial de híbridos de milho geneticamente modificados foi autorizada a alguns anos. Por isso, informações relacionadas às pragas alvo em condições nacionais e estudos de campo para avaliar a eficácia da tecnologia comparada a híbridos comerciais não Bt e aplicação de inseticidas para o controle da lagarta-do-cartucho (MICHELOTTO et al., 2011a), assim como em outros lepidópteros praga são extremamente importantes.

O milho Bt é obtido por meio da transformação genética de plantas de milho com genes da bactéria *B. thuringiensis*. Estes genes são responsáveis pela produção de proteínas nos tecidos das plantas as quais promovem ação inseticida sobre alguns tipos de insetos. Os eventos de milho Bt disponíveis no mercado brasileiro atualmente protegem as plantas de milho em maior ou menor grau contra o ataque de espécies de insetos praga da Ordem Lepidoptera como a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a broca do colmo (*D. saccharalis*) e lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) (MICHELLOTO et al., 2011 b).

A toxicidade de *B. thuringiensis* está relacionada à síntese das proteínas Cry que atuam especificamente no intestino médio dos insetos, as quais são codificadas por genes *cry*. Essas proteínas têm atividade inseticida a diferentes Ordens de insetos praga, de acordo com a presença dos genes *cry*, nas cepas bacterianas. Além dessas proteínas, o entomopatógeno produz outros tipos de toxinas, como exotoxinas, proteínas Vip, endotoxinas, entre outras (PINTO et al., 2009).

A eficiência do milho Bt foi avaliada por Williams et al. (1997) para *Diatraea grandiosella* (Dyar, 1911) (Lepidoptera: Crambidae) e *S. frugiperda* em alguns milhos transgênicos que ocasionaram alta mortalidade das pragas. E mesmo em alguns dos materiais onde as lagartas de *D. saccharalis* foram sobreviventes, estas

apresentaram peso de lagarta inferior em relação àquelas que se alimentaram em dieta à base de milho convencional.

Em pesquisa de Castro, Leonard e Riley (2004), a broca do colmo foi suscetível ao evento MON810 apenas em um dos híbridos Bt avaliados, sendo a mortalidade das larvas da broca depois de 96 h de ser submetidas ao consumo de folhas com o evento CBH351 (Cry 9C) significativamente menor que em larvas que consumiram folhas com o evento MON810. Os autores ainda observaram que a resistência das plantas à broca do milho (*D. grandiosella*) e da broca do colmo (*D. saccharalis*) aumentou à medida que as plantas amadureciam, não importando se eram portadoras ou não dos genes Bt.

Huang, Leonard e Andow (2007) relataram o primeiro caso de alelos de resistência de lagartas de *D. saccharalis* ao milho Bt em lepidópteros pragas alvo, sugerindo mecanismos para a determinação da resistência genética e estimativa da frequência de um alelo de resistência provável em uma população nativa em área da Louisiana (EUA) para *D. saccharalis*. Resultados obtidos por Wu et al. (2009) também sugerem que *D. saccharalis* tem relativamente potencial mais elevado para desenvolver resistência ao milho Bt que *O. nubilalis* ou *D. grandiosella*.

Outro aspecto relevante e que foi colocado por Waquil et al. (2002) consiste no fato de que há diferenças entre os eventos Bt incorporados ao milho quanto à resistência por exemplo da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) expressa a toxina Cry 1F como altamente resistente, Cry 1Ab resistente, o Cry 1Ac moderadamente resistente e Cry 9C como suscetível. Ainda os mesmos autores relacionaram que as toxinas Cry 1F e Cry 1Ab reduzem tanto a sobrevivência como o desenvolvimento das larvas, sendo que os híbridos expressando Cry 1F mostram-se praticamente imune ao ataque dessa praga. Em pesquisas com *D. saccharalis*, Huang, Leonard e Gable (2006) verificaram menor suscetibilidade da praga à proteína Cry 1Ab e, Tan et al. (2011) reportaram que a proteína Bt Cry 1Ba foi significativamente mais tóxica à praga. Ainda os autores constataram que a proteína Cry1F foi significativamente mais tóxica para as brocas: *O. nubilalis* e *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) e, *D. saccharalis* mostrou-se tolerante, diferentemente dos resultados de Souza (2013) que indicou a praga como altamente suscetível à proteína Cry 1F.

## Referências

AGROFIT- Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. 2013. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br> .

ARAÚJO, L. F.; SILVA, A. G.; CRUZ, I.; CARMO, E. L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M. M. P.; RATTES, J. F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico *Bt*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.10, n.3, p. 205-214, 2011.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p.537-542, 1997.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; LEONELO, A. F.; JESUS, F. G. Dietas artificiais incorporadas ou não a colmos triturados de variedades de cana-de-açúcar na biologia de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 39-48. 2011.

BORTOLI, S. A.; DÓRIA, H. O. S.; ALBERGARIA, N. M. M. S.; BOTTI, M. V. Aspectos biológicos e dano de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrogênio e potássio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p.267-273, 2005.

BOTELHO, P. S.M.; MACEDO, N. Casos de sucesso de controle biológico aplicados no Brasil '*Cotesia flavipes* para controle de *Diatraea saccharalis*'. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002, cap. 4, p. 409-425.

CAMARGO, M. S.; KORNDÖRFER, G. H.; FOLTRAN, D. E.; HENRIQUE, C. M.; ROSSETTO, R. Absorção de silício, produtividade e incidência de *Diatraea saccharalis* em cultivares de cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p.937-944, 2010.

CAMPOS, A. P. **Resistência de cultivares de amendoim de hábitos de crescimento ereto e rasteiro a *Spodoptera frugiperda*, em laboratório.** 2009. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2009.

CAPINERA, J. L. Sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). **EENY**, Gainesville, n. 217, 2001. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/in374> > Acesso em: 02 set.2013.

CARVALHO, S. P.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G. Efeito do silício na resistência do sorgo (*Sorghum bicolor*) ao pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rond.) (Homoptera: Aphididae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 505-510, 1999.

CASTRO, A. L. G.; CRUZ, I.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SANTOS, C. V. Bioecologia de *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae) alimentada com ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). In: X CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 2p., 2011. São Lourenço. **Resumos...** São Lourenço: SEB, 2011.p.1-2.

CASTRO, B. A.; LEONARD, B. R.; RILEY, T. J. Management of feeding damage and survival southwestern corn borer and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with *Bacillus thuringiensis* transgenic field corn. **Journal of Economy Entomology**, Maryland, v. 97, n. 6, p. 2106-2116, 2004.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, junho 2013. – Brasília : Conab, 31p., 2013. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_06\\_06\\_09\\_09\\_27\\_boletim\\_graos\\_-\\_junho\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_06_09_09_27_boletim_graos_-_junho_2013.pdf)> Acesso em: 08 nov. 2013.

COSTA, D. M.; COELHO E FRANCEZ, A. C.; RIGOLIN-SÁ, O. Biologia da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Lepidoptera: Crambidae) em dieta artificial. **Ciência et Práxis**, Passos, v. 3, n. 5, p. 13-16. 2010.

CRUZ, I. A Broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil. **Documentos: Embrapa Milho e Sorgo**, nº 90, Sete Lagoas, 12p. 2007.

CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.68, n.2, p.252-254, 2011.

DAVES, C. A.; WILLIAMS, W. P.; DAVIS, F. M. Impact of plant resistance on southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) biology and plant damage. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, n. 3, p. 969-975, 2007.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A.; COSTA, V. P.; FRACASSO, J. V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 1-7, 2012.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; COSTA, V. P.; ANJOS, I. A.; LOPES, D. O. P. Reação de cultivares de cana-de-açúcar à broca do colmo. **Bragantia**, Campinas, v. 72, n. 1, p. 29-34, 2013.

FERNANDES, O. D. **Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp.** 2003. 164p. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

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.

FERREIRA, E.; BARRIGOSI, J. A. F.; CASTRO, E. M.; SANTOS, A. B. Perdas de produção pela broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis* Fabr. 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em genótipos de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 2, p. 99-103, 2004.

FERREIRA, E.; BRESEGHELLO, F.; CASTRO, E. M.; BARRIGOSI, J. A. F. Broca - do - colmo nos agroecossistemas de arroz do Brasil. **Documentos: Embrapa Arroz e Feijão**, nº 114, Santo Antonio de Goiás, 42p. 2001.

FLYNN, J. L.; REAGAN, T. E. Corn phenology in relation to natural and simulated infestations of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 77, n. 6, p. 1524-1529, 1984.

FLYNN, J. L.; REAGAN, T. E.; OGUNWOLU, E. O. Establishment and damage of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) in corn as influenced by plant development. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 77, n. 3, p. 691-697, 1984.

FRIZZAS, M. R.; CUNHA, U. S.; MACEDO, L. P. M. Plantas transgênicas resistentes a insetos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 13-18, 2004.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, S. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p., 2002.

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, 2002.

HUANG, F.; LEONARD, B. R.; ANDOW, D. A. Sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) resistance to transgenic *Bacillus thuringiensis* maize. **Journal of Economy Entomology**, Maryland, v.100, n. 1, p.164-171, 2007.

HUANG, F.; LEONARD, B. R.; GABLE, R. H. Comparative Susceptibility of European Corn Borer, Southwestern Corn Borer, and Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab Protein in a Commercial *Bacillus thuringiensis* Corn Hybrid. **Journal of Economic Entomology**, Maryland, v. 99, n.1, p.194-202, 2006.

LEITE, G. L. D. Resistência de tomates a pragas. **Unimontes Científica**. Montes Claros, v.6, n.2 , p. 129- 140; 2004.

MACEDO, N.; ARAÚJO, J. R. Efeitos da queima do canavial sobre parasitóides de larvas e de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n.1, p.79-84, 2000.

MARTINS, J. F. da S. **Resistência de variedades de arroz à *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) e sua associação com características biofísicas e bioquímicas das plantas.** 1983.139 f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.

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, 2011a.

MICHELOTTO, M.; FREITAS, R.; FINOTO, E.; MARTINS, A. L.; DUARTE, A. Milho: tecnologia protetora. **Revista Cultivar-Grandes Culturas**, Pelotas, nº 145, p.36-38, 2011b.

MORAES, J. C.; FERREIRA, R. S.; COSTA, R. R. Indutores de resistência à mosca-branca *Bemisia tabaci* Biótipo B (Genn., 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 5, p. 1260-1264, set./out., 2009.

MORÉ, M.; TRUMPER, E. V.; PROLA, M. J. Influence of corn, *Zea mays*, phenological stages in *Diatraea saccharalis* F. (Lep. Crambidae) oviposition. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.127, n. 9-10, 512–515, 2003.

NASCIMENTO, J. B.; BORBA, T. C. O.; MELO, R. N.; BARRIGOSI, J. A. F.; MARTINS, J. F. S.; FERNANDES, P. M. Resposta de diferentes genótipos de arroz (*Oryza sativa*) ao ataque da broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis*). In: Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão- CONPEEX (2010), UFG, p. 5864-5868, 2010.

OLIVEIRA, J. V.; FREITAS, T. F. S.; FIUZA, L. M.; MENEZES, V. G.; DOTTO, G. Manejo de insetos associados à cultura do arroz irrigado. **Boletim Técnico nº 8.** Instituto Rio Grandense do Arroz: Cachoeirinha, IRGA/ Estação Experimental, Seção Agronomia, 56p. 2010.

OLIVEIRA, M. A. P.; MARQUES, E. J.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; BARROS, R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**. Maringá, v. 30, n. 2, p. 220-224, 2008.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas/** Editores técnicos:\_\_\_\_\_. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 2, p.37-90.

PARRA, J.R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores. Editora Manole: São Paulo, 620 p., 2002.

PINTO, A. S.; CANO, M. A. V.; SANTOS, E. M. A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. In: Alexandre de Sene Pinto. (Org.). **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Boletim Técnico Biocontrol: Sertãozinho, p.15-20, 2006.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 108p. 2004.

PINTO, L. M. N.; BERLITZ, D. L.; CASTILHOS-FORTES, R.; FIUZA, L. M. Toxinas de *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, nº 38, p.24-31, 2009.

PINTO, M. S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 2, p. 241-248, 2011.

RAMÓN, M. M. C.; MAURIELLO, M. F.; GRATEROL, Y.; GIRALDO-VANEGAS, H.; MENDOZA, C.; PÉREZ, P. M. M.; IZARRAGA, T. R. M. Asociación entre las características varietales y el daño ocasionado por el taladrador de la caña de azúcar, en el estado portuguesa, Venezuela. **Agronomía Tropical**, Venezuela, v. 58, n. 2; p. 111-116, 2008.

ROMEIS, J.; BARTSCH, D.; BIGKER, F.; CANDOLFI, M. P.; GIELKENS, M. M. C.; HARTLEY, S. E.; HELLMICH, R. L.; HUESING, J. E.; JEPSON, P. C.; LAYTON, R.; QUEMADA, H.; RAYBOUND, A.; ROSE, R. I.; SCHIEMANN, J.; SEARS, M. K.; SHELTON, A. M.; SWEET, J.; VAITUZIS, Z.; WOLF, J. D. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. **Nature Biotechnology**, New York, v.26, n.2, p. 203-208, 2008.

SÁNCHEZ, F.; POLLACK, M.; QUISPE, A. Eficiência parasítica de *Paratheresia claripalpis* sobre larvas de *Diatraea saccharalis* confinadas em jaulas. **Revista Peruana de Entomologia**, Lima, v. 34, n. p.98-100, 1991.



SERRA, G.; TRUMPER, E. Estimación de incidencia de daños provocados por larvas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) en tallos de maíz mediante evaluación de signos externos de infestación. **Agriscientia**, Córdoba, 2006, v. 23, n. 1, p.1-7, 2006.

SIDHU, J. K.; STOUT, M. J.; BLOUIN, D. C. Performance and preference of sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, on rice cultivars. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 149, n. 1, p.67-76, 2013.

SILVA, C. C. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; VALENTE, E. C. N. Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n.1, p. 23-27, 2012.

SILVEIRA, L. C. P.; VENDRAMIM, J. 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.

SOUZA, A. M. L.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Consumo e Utilização de Alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Duas Temperaturas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n.1, p. 11-17, 2001.

SOUZA, D. S. A. **Suscetibilidade de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) à proteína Cry 1F de *Bacillus thuringiensis* Berliner no Brasil**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

TAGLIARI, S. R. A. **Não-preferência para oviposição, alimentação e antibiose de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) por genótipos de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C.)**. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

TAN, S. Y.; CAYABYAB, B. F.; ALCANTARA, E. P.; IBRAHIM, Y. B.; HUANG, F.; BLANKENSHIP, E. E.; SIEGFRIED, B. D. Comparative susceptibility of *Ostrinia furnacalis*, *Ostrinia nubilalis*, and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 1184–1189; 2011.

VACARI, A. M.; OTUKA, A. K.; BORTOLI, S. A. Desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.3, p.259-265, 2007.

WANGILA, D. S. **Evaluation of *Bacillus thuringiensis* corn containing pyramided traits for management of sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (f.)**. 2012. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Estadual de Louisiana, 2012.  
WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

WILLIAMS, W. P.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J. A.; DAVIS, F. M.; BUCKLEY, P. M. Transgenic Corn Evaluated for Resistance to Fall Armyworm and Southwestern Corn Borer, **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 957-962, 1997.

WU, X.; HUANG, F.; LEONARD, B. R.; GHIMIRE, M. Growth and development of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab-susceptible and Cry1Ab-resistant sugarcane borer on diet and conventional maize plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.133, n. 2, p.199-207, 2009.

1 **CAPÍTULO 2 – Não preferência alimentar de *Diatraea saccharalis* em milho**  
2 **convencional e transgênico**

3  
4 **NÃO PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE *Diatraea saccharalis* EM MILHO**  
5 **CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO<sup>1</sup>**

6  
7  
8 **RESUMO** – *Diatraea saccharalis* ocasiona prejuízos em diversas gramíneas como cana-de-  
9 açúcar, milho, milheto, sorgo e arroz. Nesta perspectiva, objetivou-se verificar a não  
10 preferência para alimentação de *D. saccharalis* por cultivares convencionais e transgênicas de  
11 milho. O experimento foi conduzido no Laboratório de Resistência de Plantas da  
12 UNESP/Jaboticabal. Para a pesquisa utilizaram-se as convencionais (AG 7088; BX 1293; AG  
13 5055; IAC 8390; TRUCK; SHS 7780; DKB 370; 2B 587) e transgênicas (SX 8330 TL TG;  
14 DAS 2B707 HX; P3646 HX; BG 7049 YG; DKB 789 YG; FERROZ TL; DKB 390 VTPRO).  
15 Os testes de não preferência para alimentação, com e sem chance de escolha, foram  
16 conduzidos em plantas com 40 dias de idade e utilizaram-se dois estágios da praga: larvas  
17 recém-eclodidas e larvas com 15 dias de idade. As variáveis analisadas foram: atratividade  
18 para colmos em tempos de 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60', 120', 360', 1440' e 2880'; massa seca  
19 consumida; atratividade em 72h para seções foliares e porcentagem de dano. Lagartas com 15  
20 dias de idade consomem igualmente as cultivares de milho convencional, em testes com e sem  
21 chance de escolha. As lagartas recém-eclodidas proporcionam menor porcentagem de dano  
22 na cultivar convencional 2B 587 em teste sem chance de escolha e nas cultivares transgênicas  
23 DAS 2B707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO.

24  
25 **Palavras-chave:** *Bacillus thuringiensis*. Broca do colmo. Resistência de Plantas. *Zea mays*

---

\* Autor para correspondência.

<sup>1</sup> Recebido em .....; aceito em .....

## FEEDING NON PREFERENCE OF *Diatraea saccharalis* IN TRANSGENIC AND CONVENTIONAL MAIZE

ABSTRACT – *Diatraea saccharalis* causes damage in several grasses such as sugar cane, corn, millet, sorghum and rice. In this perspective, aimed to determine the feeding non preference of sugarcane borer to conventional and transgenic maize cultivars. The experiment was conducted at the Laboratory of Plant Resistance UNESP/Jaboticabal. Were used conventional (AG 7088; BX 1293; AG 5055; IAC 8390; TRUCK; SHS 7780; DKB 370; 2B 587) and transgenic (SX 8330 TL TG; DAS 2B707 HX; P3646 HX; BG 7049 YG; DKB 789 YG; FERROZ TL; DKB 390 VTPRO). The tests of feeding non preference with multiple and non-choice in both conventional and transgenic materials were conducted on plants 40 days old and used two stages of the pest: newly hatched larvae and larvae 15 days old. The variables analyzed were: attractiveness as function of the time: 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60', 120', 360', 1440' and 2880' and dry matter consumed, attractiveness for 72h in leaf sections and percentage of damage caused by caterpillars. Larvae with 15 days old of *D. saccharalis* consumed conventional maize cultivars in tests with multiple and non-choice. The newly-hatched larvae provided less percentage damage in conventional cultivar 2B 587 in non-choice test, besides on transgenic maize cultivars: DAS 2B707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO provided the lowest percentage damage

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*. Sugarcane borer. Plant resistance. *Zea mays*

### 2.1 INTRODUÇÃO

No Brasil o cultivo do milho apresentou, na safra 2012/13 produção total de 81.505,7 mil toneladas, tendo nos estados do Mato Grosso e Paraná, seus principais produtores. Apesar da competição por área cultivada com a soja, estimativas para safra 2013/14 continuam a destacar o grão com produção de 75.191,1 mil toneladas (CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2014). Contudo, a cultura pode sofrer com vários problemas fitossanitários desde a implantação até a colheita dos grãos. Dentre estes, destacam-se os lepidópteros como a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850)

58 (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca do colmo da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*  
59 (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).

60 A broca do colmo é responsável por prejuízos nas culturas da cana-de-açúcar, milho,  
61 milho, sorgo e arroz (WAQUIL et al., 2003). Ao atacarem o interior do colmo da planta, as  
62 larvas ocasionam danos que podem acarretar perdas entre 10 e 50% nos rendimentos do milho  
63 (CRUZ, 2007). O avanço desta praga nos campos agrícolas deve-se, principalmente, ao  
64 aumento das áreas plantadas com cana-de-açúcar, ao cultivo sucessivo em grandes áreas com  
65 plantas hospedeiras, ao uso de novos sistemas de produção e até o possível surgimento de  
66 genótipos de *D. saccharalis* mais adaptados ao milho (GEREMIAS, 2008).

67 Nesta perspectiva, foi liberada no Brasil a comercialização de híbridos de milho Bt,  
68 integrando em seu genoma o gene *cry1Ab*, proveniente de *Bacillus thuringiensis* subsp.  
69 *kurstaki*, que codifica a proteína com efeito tóxico sobre insetos da ordem Lepidoptera  
70 (MICHELLOTO et al., 2011). Uma vez que a broca da cana é um dos principais alvos do  
71 milho transgênico expressando proteínas (Bt), tanto na América do Sul como na região  
72 centro-sul dos Estados Unidos (HUANG et al., 2012), isto representou importante  
73 mecanismo para controle dessa praga. Considerando seu hábito alimentar no interior dos  
74 colmos, as medidas convencionais de controle, através de inseticidas químicos direcionados  
75 para a larva, após seu estabelecimento nas plantas são pouco eficientes (CRUZ, 2007).

76 A utilização de genótipos resistentes ao ataque de pragas e doenças apresenta vantagens,  
77 pois geralmente é compatível com a aplicação de outras estratégias de manejo, como o  
78 biológico, o químico, o cultural, dentre outros (BOIÇA JUNIOR et al., 1997). Contudo,  
79 pesquisas que contribuam com informações quanto ao comportamento de *D. saccharalis* em  
80 cultivares resistentes e nas condições brasileiras são importantes para avaliar a eficiência  
81 deste método de controle. Martins (1983) investigou fontes de resistência em algumas  
82 cultivares de arroz à broca do colmo e, as associou com características bioquímicas e  
83 biofísicas das plantas e obteve fontes de resistência na categoria antibiose. Ferreira et al.  
84 (2004) e Nascimento et al. (2010) também pesquisaram o desempenho de cultivares de arroz  
85 sob o ataque de *D. saccharalis*, selecionando materiais resistentes à esse lepidóptero.  
86 Dinardo-Miranda et al. (2012) avaliaram a não preferência de oviposição de *D. saccharalis* e  
87 o efeito de dez cultivares de cana-de-açúcar no desenvolvimento larval. Dentro deste enfoque,  
88 objetivou-se avaliar o comportamento de cultivares de milho convencional ou transgênico  
89 quanto à preferência alimentar de *D. saccharalis*.

## 90 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

91

92 Para estudo da não preferência para alimentação de *D. saccharalis* em milho, foi  
 93 desenvolvida esta pesquisa em casa de vegetação e no Laboratório de Resistência de Plantas a  
 94 Insetos do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias  
 95 (FCAV) - UNESP - Campus de Jaboticabal, no período de agosto a novembro de 2012. Os  
 96 insetos e as posturas de *D. saccharalis* foram adquiridos junto ao laboratório de controle  
 97 biológico da Usina São Martinho, localizada no município de Pradópolis/SP, e quando  
 98 necessário, a broca foi criada em dieta artificial conforme metodologia de Hensley e  
 99 Hammomd (1968) modificada por Araújo et al. (1985).

100 Os experimentos foram realizados utilizando lagartas de *D. saccharalis* com 15 dias de  
 101 idade e lagartas recém-eclodidas. Desta maneira, organizaram-se os ensaios em dois grupos:  
 102 1º grupo (material convencional) formado por oito cultivares e o 2º grupo (material  
 103 transgênico) constituído por sete cultivares que detinham diferentes eventos de transgenia  
 104 conforme apresentado na Tabela 1, totalizando 15 cultivares.

105

106 **Tabela 1.** Cultivares convencionais e transgênicas de milho utilizadas em testes de não  
 107 preferência para alimentação de *Diatraea saccharalis*, Jaboticabal/SP. 2012.

---

### Cultivares Convencionais (Experimento 1)

---

*T1= AG 7088	T2= BX 1293	T3= AG 5055	T4= IAC 8390	T5= TRUCK
T6= SHS 7780	T7= DKB 370	T8= 2B 587		

---

### Cultivares Transgênicas (Experimento 2)

---

	Evento	Genes	Praga-Alvo
*T1= SX 8330 TL TG	Bt11	<i>cry1Ab</i>	Broca-da-cana
T2= DAS 2B707 HX	TC 1507	<i>cry1F</i>	Broca-da-cana; lagarta-do-cartucho
T3= P3646 HX	TC 1507	<i>cry1F</i>	Broca-da-cana; lagarta-do-cartucho
T4= BG 7049 YG	Mon810	<i>cry1Ab</i>	Broca-da-cana
T5= DKB 789 YG	Mon810	<i>cry1Ab</i>	Broca da cana
T6= FERROZ TL	Bt11	<i>cry1Ab</i>	Broca da cana
T7= DKB 390 VTPRO	Mon89034	<i>cry2Ab2; cry1A. 105</i>	Broca-da-cana; lagarta-do-cartucho; lagarta-da-espiga

---

108

\* T = Tratamentos

109 O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados com oito tratamentos e  
110 dez repetições para o experimento 1 (convencional) e sete tratamentos e dez repetições para o  
111 experimento 2 (transgênico), ambos realizados simultaneamente. O milho foi cultivado em  
112 vasos com capacidade de 3 litros contendo terra e esterco na proporção 3: 1 e, 40 dias após o  
113 plantio iniciou-se os testes em laboratório, sob temperatura média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade  
114 relativa de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12h, para avaliar a não preferência para alimentação da  
115 broca. Para tanto, determinaram-se duas situações:

116 **Teste com chance de escolha.** Nestes ensaios, pedaços de colmos medindo  
117 aproximadamente 5 cm (teste com lagartas de 15 dias) foram submetidos aos cortes para  
118 adequação em peso com suas referidas alíquotas e seções foliares correspondendo à  $3\text{cm}^2$  de  
119 área (teste em lagartas recém-eclodidas). Para ambas idades das lagartas, os materiais foram  
120 dispostos equidistantes ao centro de recipientes circulares de vidro, tendo dimensões  
121 diferenciadas para lagartas de 15 dias (25,5 cm de diâmetro e 6 cm de altura, fechados por  
122 placa quadrada de vidro com 29,5 cm) e lagartas recém-eclodidas (placa de Petri com 15 cm  
123 de diâmetro x 2,5 cm de altura). No interior de cada recipiente foi depositado um círculo de  
124 papel filtro umedecido para garantir a umidade dos materiais vegetais durante a realização do  
125 ensaio. A quantidade de lagartas liberadas obedeceu ao critério de uma lagarta por colmo de  
126 cultivar (SOUZA, 2011) com 10 repetições, para lagartas com 15 dias de idade, totalizando 80  
127 lagartas (experimento 1) e 70 lagartas (experimento 2). Para as seções foliares adotou-se a  
128 quantidade de 3 lagartas por cultivar com 10 repetições, ou seja, 240 lagartas (experimento 1)  
129 e 210 lagartas (experimento 2). Paralelamente, para avaliar a massa seca consumida por  
130 lagartas de 15 dias foi produzida uma alíquota correspondente a cada pedaço de colmo das  
131 cultivares, que permaneceu nas mesmas condições de laboratório dos testes

132 **Teste sem chance de escolha.** Este teste obedeceu às mesmas medidas do experimento  
133 anterior quanto ao tamanho de colmos, folhas e formação das alíquotas. Entretanto, as  
134 amostras foram individualizadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura e  
135 aplicou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com os mesmos tratamentos  
136 e repetições dos grupos acima relacionados.

137 **Avaliação e análise dos dados.** Os parâmetros avaliados, em ambos os testes, com  
138 lagartas de 15 dias foram: atratividade para os colmos em tempos de 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60',  
139 120', 360', 1440' e 2880' após a liberação das lagartas e massa seca consumida, obtida pela  
140 diferença entre a massa seca do colmo da alíquota e massa seca do colmo ofertado. Para as

141 lagartas recém-eclodidas foi avaliada a atratividade total, ou seja, após 72h de liberação da  
142 praga e, a porcentagem de injúria de dano, obtida a partir da média atribuída das notas de dois  
143 avaliadores. Os dados obtidos nos testes de não preferência para alimentação foram  
144 submetidos ao teste de normalidade e quando não atenderam à curva de normalidade, foram  
145 transformados em  $\log(x + 5)$ . Em seguida, realizou-se análise de variância e teste de  
146 comparação de médias pelo Teste de Tukey, ambos realizados pelo programa ASSISTAT  
147 versão 7.6 beta (SILVA, 2014).

148 Os dados relativos à presença dos indivíduos (lagartas) em cada tratamento, nas  
149 condições com e sem chance de escolha, foram submetidos à regressão logística, ajustando os  
150 dados à distribuição binomial, através do procedimento GENMOD (SAS INSTITUTE,  
151 2006). A proporção de insetos em cada tratamento (cultivares) prevista pelo modelo foi  
152 calculada através da fórmula:

$$153 \quad P_i = 1 / \left( 1 + \exp(- (b_0 + b_{1x_1} + b_{2x_2^2} + b_n x_n)) \right)$$

154 onde,  $P_i$  = proporção de insetos prevista,  $\exp$  = função exponencial,  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$  e  $b_n$  = são os  
155 coeficientes de regressão,  $x$  = tempo (minutos).

156

157

### 158 **2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

159

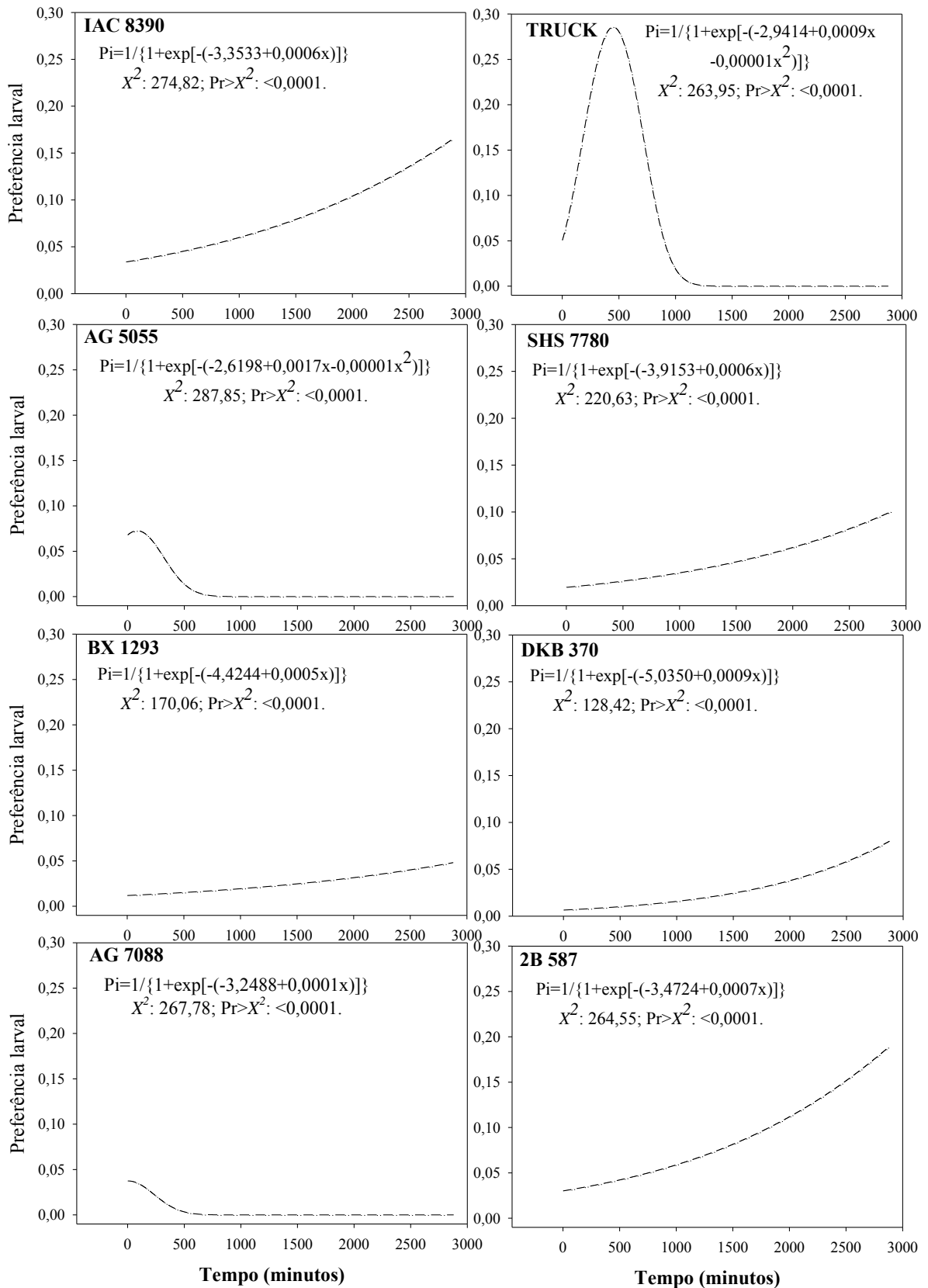
160 Os resultados alcançados nos testes com chance de escolha em milho convencional não  
161 possibilitaram destacar cultivares como suscetíveis ou resistentes, pois não houve diferença  
162 significativa entre as oito cultivares tanto nos parâmetros de atratividade de lagartas com 15  
163 dias de idade nos intervalos de tempo, assim como na massa seca de colmo consumida  
164 (Tabela 2). Todavia, utilizando a análise de regressão no mesmo teste foi possível verificar  
165 uma diferenciação no comportamento das cultivares (Figura 1). As cultivares AG 5055 e  
166 Truck foram atraentes e excitantes nos primeiros tempos de avaliação, pois os insetos foram  
167 direcionados aos colmos e iniciaram a alimentação logo nos 360 minutos, entretanto  
168 apresentaram caráter deterrente, uma vez que houve um decréscimo na proporção de lagartas  
169 por cultivar nas avaliações a partir de 1440 minutos, indicando que as lagartas apresentaram  
170 estímulos negativos que as impediram de continuar a alimentação. Pode-se assim inferir que  
171 nessas cultivares haveria alguma propriedade particular a ser explorada como fonte de  
172 resistência.



173 **Tabela 2.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* de 15 dias de idade atraídas por colmos de cultivares de milho convencional, em  
 174 intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.

Cultivares Convencionais	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>											Massa Seca Consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	2880'	
AG 7088	0,00 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,40 a	0,50 a	0,40 a	0,30 a	0,60 a	0,30 a	16,27 a
BX 1293	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,10 a	0,10 a	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,20 a	0,40 a	10,39 a
AG 5055	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,80 a	1,00 a	1,30 a	1,60 a	1,30 a	0,90 a	23,51 a
IAC 8390	0,00 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,20 a	0,40 a	0,40 a	0,40 a	0,60 a	0,80 a	1,30 a	13,37 a
TRUCK	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,50 a	0,50 a	0,70 a	0,50 a	0,70 a	1,10 a	0,70 a	8,76 a
SHS 7780	0,10 a	0,20 a	0,10 a	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,10 a	0,00 a	0,20 a	0,30 a	0,90 a	8,09 a
DKB 370	0,00 a	0,00 a	0,10 a	0,20 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,20 a	0,50 a	0,60 a	14,95 a
2B 587	0,00 a	0,20 a	0,10 a	0,40 a	0,40 a	0,30 a	0,20 a	0,30 a	0,20 a	0,90 a	1,20 a	12,79 a
F (Tratamento)	1,26 <sup>ns</sup>	0,70 <sup>ns</sup>	0,50 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,94 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	1,60 <sup>ns</sup>	1,62 <sup>ns</sup>	1,37 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	0,62 <sup>ns</sup>	1,42 <sup>ns</sup>
CV %	2,40	3,86	4,42	5,34	5,43	7,19	7,99	8,70	10,26	10,37	11,73	0,16

175 <sup>1</sup>Para análise os dados foram transformados em log (x + 5). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de  
 176 probabilidade.  
 177  
 178  
 179



180  
181  
182

**Figura 1.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho convencional, em teste com chance de escolha.

183

184 No teste com chance de escolha de cultivares transgênicas, também não houve diferença  
185 estatística quanto ao número de lagartas de 15 dias de idade atraídas e consumo de massa  
186 seca, conforme demonstrado na Tabela 3. Entretanto, em análise de regressão (Figura 2) foi  
187 possível observar que nos tempos iniciais das avaliações houve atração pelas cultivares BG  
188 7049 YG, P3646 HX, DAS 2B707 HX e SX 8330 TL TG. No entanto, após iniciarem a  
189 alimentação, as larvas cessaram a atividade alimentar logo após a mordida de prova nos  
190 colmos das cultivares DKB 789 YG, FEROSZ TL e DKB 390 VTPRO. As larvas apresentaram  
191 nas cultivares BG 7049 YG, P 3646 e DAS 2B707 HX picos de atratividade apenas quando  
192 atingiram 2880 minutos de exposição, provavelmente devido ao vazio alimentar em que  
193 foram expostas. Segundo Castro et al. (2004), a sobrevivência da broca do colmo alimentada  
194 com tecido foliar de milho pode ser afetada pelo híbrido utilizado e tempo de avaliação, além  
195 da interação desses dois fatores. Em sua pesquisa, a sobrevivência da broca diminuiu  
196 significativamente para 16% depois de 96 h de exposição ao alimento Pioneer 31B13.

197

Diferentemente do que ocorreu nas cultivares DKB 789 YG, Feroz TL e DKB 390  
198 VTPRO que se comportaram como excitantes a partir do tempo de 360 minutos e, no tempo  
199 de 1440 minutos apresentaram um decréscimo na atividade alimentar (deterrência), indicando  
200 interferência de estímulos contrários a alimentação larval. Dutton et al. (2005) fizeram  
201 observações quanto ao comportamento larval de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833)  
202 (Lepidoptera: Noctuidae), onde as larvas após se alimentarem de plantas transgênicas ou  
203 pulverizadas com Bt, apresentaram uma tendência a afastar-se da planta e fugir das gaiolas.  
204 Na condição com chance de escolha, os coeficientes da regressão logística foram negativos  
205 para as cultivares convencionais AG 5055 (-0,00001) e Truck (-0,00001) e para as  
206 transgênicas DKB 789 YG (-0,00001), Feroz TL (-0,00001) e DKB 390 VTPRO (-0,00001)  
207 Estes dados podem ser confirmados nas Figuras 1 e 2, onde é possível verificar que a  
208 proporção de lagartas por cultivar diminuiu após 1440 minutos da liberação das larvas de *D.*  
209 *saccharalis*. Conforme Vendramim e Guzzo (2009), a resistência é resultante da interação  
210 entre inseto e planta, e as respostas dos insetos variam de acordo com os estímulos positivos  
211 ou negativos produzidos pela planta.

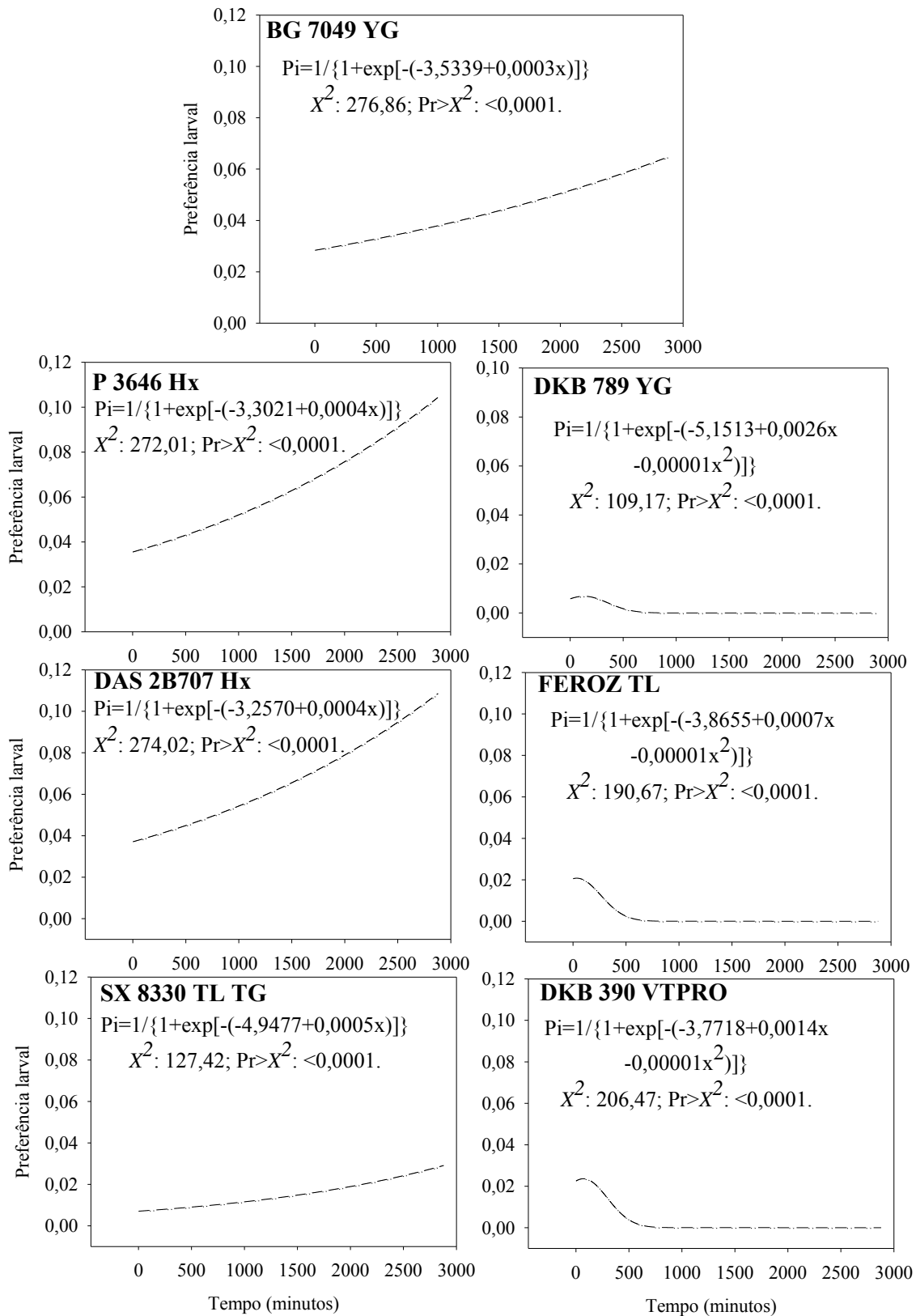
212

213

214 **Tabela 3.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho transgênico em  
 215 intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.  
 216

Cultivares Transgênicas	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>											Massa Seca Consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	2880'	
SX 8330 TL TG	0,00 a	0,00 a	0,10 a	0,00 a	0,10 a	0,10 a	0,00 a	0,00 a	0,20 a	0,20 a	0,20 a	3,68 a
DAS 2B 707 HX	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,40 a	0,50 a	0,40 a	0,60 a	0,40 a	0,60 a	0,70 a	4,26 a
P3646 HX	0,20 a	0,30 a	0,10 a	0,30 a	0,50 a	0,30 a	0,20 a	0,30 a	0,50 a	0,40 a	0,90 a	6,15 a
BG 7049 YG	0,00 a	0,10 a	0,00 a	0,00 a	0,30 a	0,40 a	0,30 a	0,40 a	0,60 a	0,20 a	0,50 a	5,67 a
DKB 789 YG	0,00 a	0,00 a	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,00 a	0,10 a	0,00 a	0,10 a	0,50 a	0,40 a	3,49 a
FEROZ TL	0,00 a	0,00 a	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	5,97 a
DKB 390												
VTPRO	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,50 a	0,30 a	4,63 a
F (Tratamento)	0,68 <sup>ns</sup>	1,13 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>	1,30 <sup>ns</sup>	0,63 <sup>ns</sup>	0,78 <sup>ns</sup>	0,81 <sup>ns</sup>	1,06 <sup>ns</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>	1,11 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>
CV%	3,18	3,39	3,39	3,31	5,98	6,22	5,06	6,59	6,93	7,44	7,66	0,07

217 <sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados em log (x + 5). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5%  
 218 de probabilidade.  
 219



220

221 **Figura 2.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho  
 222 transgênico em teste com chance de escolha.

223 No teste sem chance de escolha para lagartas de 15 dias de idade para híbridos  
224 convencionais (Tabela 4) foi observada diferença significativa entre as cultivares BX 1293 e  
225 2B 587 no parâmetro atratividade aos 2880 minutos, indicando-os como menos e mais  
226 atrativos, respectivamente. Em análise de regressão (Figura 3), as cultivares AG 5055 e AG  
227 7088 mostraram crescente atratividade a partir da avaliação em 360 minutos; distintamente do  
228 comportamento observado nos materiais Truck, SHS 7780 e IAC 8390 que alcançaram  
229 ascendentes de atratividade a partir da avaliação de 1440 minutos, ou seja, após 24 horas de  
230 exposição ao alimento. Segundo Isman (2006), os insetos possuem uma plasticidade  
231 comportamental se habituando rapidamente à deterrentes de alimentação, tornando-os  
232 ineficazes numa questão de horas. Embora, Silveira et al. (1998) tenham relacionado que  
233 tanto a antibiose quanto a não preferência são mecanismos de resistência encontrados em  
234 germoplasmas de milho.

235 Essa maior ou menor aceitação desses materiais pode indicar aspectos da suscetibilidade  
236 e/ou resistência desses materiais. Daí a importância dos testes sem chance de escolha, porque  
237 muita das vezes um material menos preferido em condições de livre escolha torna-se  
238 suscetível e apresenta danos elevados quando o inseto não tem outro alimento alternativo,  
239 como ocorreu com a cultivar Truck que se mostrou deterrente no teste com chance (Figura 1)  
240 e atrativo no teste sem chance (Figura 3), permitindo sugerir que não houve estabilidade da  
241 possível característica de resistência na cultivar.

242 Durante os testes sem chance de escolha com as cultivares transgênicas e lagartas de 15  
243 dias de idade verificou-se diferenças significativas apenas para o parâmetro de massa seca  
244 consumida, onde a cultivar Feroz TL em relação aos demais, apresentou-se como mais  
245 consumida pelas lagartas e com tendência para maior número de insetos atraídos desde os  
246 primeiros tempos de avaliação conforme demonstrado na Tabela 5.

247 Os coeficientes de regressão logística, na condição sem chance de escolha, foram  
248 positivos para as cultivares convencionais: IAC 8390 (0,00001), Truck (0,00001), SHS 7780  
249 (0,00001) e 2B 587 (0,00001) e, negativo na cultivar BX 1293 (-0,0001). Tais resultados  
250 podem ser confirmados nas Figuras 3 e 4, pois obteve-se um aumento na proporção de  
251 lagartas por cultivar nos materiais IAC 8390, Truck, SHS 7780 e 2B 587, após 1440 minutos  
252 e, diminuição na proporção para o material BX 1293, no mesmo período de avaliação. No  
253 entanto, para os transgênicos testados apenas o BG 7049 YG apresentou coeficiente positivo

254 (0,00001), também com aumento na proporção de lagartas por cultivar a partir do tempo de  
255 1440 minutos.

256 Quando o comportamento de *D. saccharalis* foi avaliado, nas seções foliares e com  
257 larvas recém-eclodidas, obteve-se resultado similar aos testes com lagartas de 15 dias de  
258 idade. No teste com chance de escolha em milho convencional não houve diferença  
259 significativa nos parâmetros, atratividade após 72 horas e porcentagem de injúria de dano  
260 (Tabela 7). No entanto, quando aplicou-se o teste sem chance de escolha para os mesmos  
261 materiais, estes exerceram comportamento distinto quanto à porcentagem de injúria de dano,  
262 tendo as cultivares Truck (46%) e DKB 370 (39,50%) apresentado maior porcentagem média  
263 de injúria e, as cultivares AG 7088 (21%) e 2B 587 (19,50%), as menores médias. Deve-se  
264 ressaltar que as larvas mais velhas são menos seletivas, apresentando um consumo  
265 indiscriminado das partes vegetais comparando-as com larvas mais jovens que são mais  
266 seletivas (PARRA et al., 2009).

267 Para os mesmos testes aplicados nos materiais transgênicos foi verificado que no teste  
268 com chance de escolha, as larvas recém-eclodidas apresentaram maior atratividade pela  
269 cultivar DKB 390 VTPRO (2,50%) e menor atratividade pela cultivar DAS 2B707 HX  
270 (0,60%), apesar da maior porcentagem de injúria de dano ter sido atribuída para a cultivar  
271 Feroz TL (Tabela 7.) No teste sem chance, não houve diferença significativa no aspecto  
272 atratividade, mas em relação ao dano provocado pela broca, as cultivares DAS 2B707 HX  
273 (0,42%), DKB 789 YG (0,46%) e DKB 390 VTPRO (0,29%) apresentaram as menores  
274 porcentagens de dano e a cultivar Feroz TL manteve a maior porcentagem média (3,39%). De  
275 acordo com Williams et al. (2006), avaliando a resistência de três brocas do milho: *Diatraea*  
276 *grandiosella* (Dyar, 1911) (Lepidoptera: Crambidae), *S. frugiperda* e *H. zea*, o crescimento  
277 larval reduzido e classificações mais baixas de danos também foram observados nos híbridos  
278 de milho resistentes desenvolvidos através de melhoramento convencional.

279

280

281

282

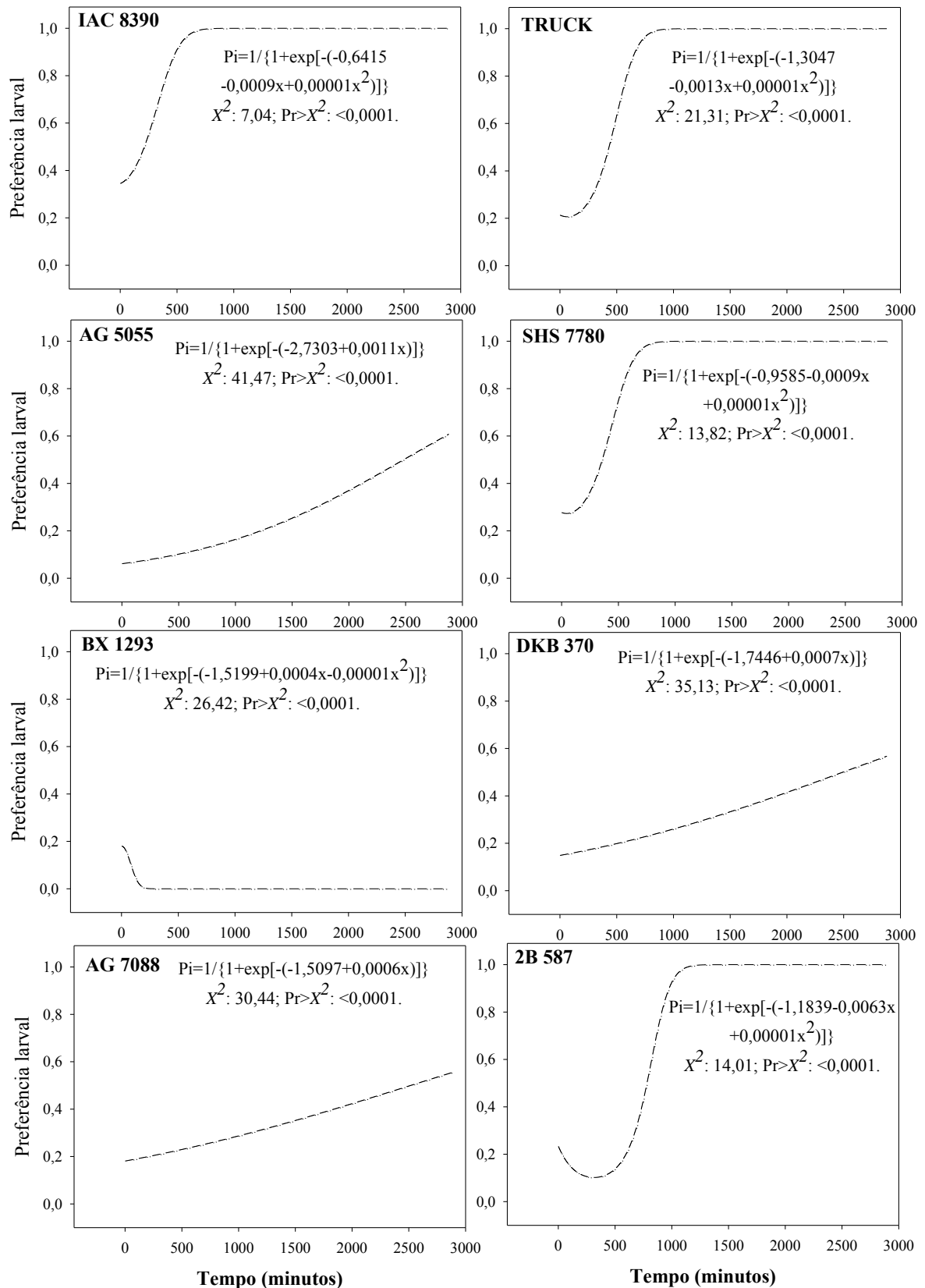
283

284 **Tabela 4.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho convencional em  
 285 intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.  
 286

Cultivares Convencionais	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>											Massa Seca Consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	2880'	
AG 7088	0,30 a	0,30 a	0,10 a	0,20 a	0,10 a	0,10 a	0,20 a	0,30 a	0,10 a	0,30 a	0,60 ab	10,56 a
BX 1293	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,30 a	0,20 b	7,32 a
AG 5055	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,20 a	0,20 a	0,10 a	0,00 a	0,10 a	0,20 a	0,60 ab	8,85 a
IAC 8390	0,40 a	0,40 a	0,40 a	0,40 a	0,30 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,70 ab	12,87 a
TRUCK	0,10 a	0,10 a	0,20 a	0,40 a	0,20 a	0,40 a	0,10 a	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,80 ab	7,20 a
SHS 7780	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	0,50 ab	11,14 a
DKB 370	0,10 a	0,10 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,20 a	0,10 a	0,10 a	0,30 a	0,60 ab	8,80 a
2B 587	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,20 a	0,00 a	0,10 a	0,10 a	0,30 a	1,00 a	12,77 a
F (Tratamento)	1,09 <sup>ns</sup>	1,09 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	0,91 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	0,438 <sup>ns</sup>	0,12 <sup>ns</sup>	2,57 *	1,79 <sup>ns</sup>
CV%	4,53	4,53	4,36	4,74	4,68	4,85	4,17	4,26	3,97	5,07	4,83	0,07

287  
 288 <sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados em log (x +5). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de  
 289 probabilidade.





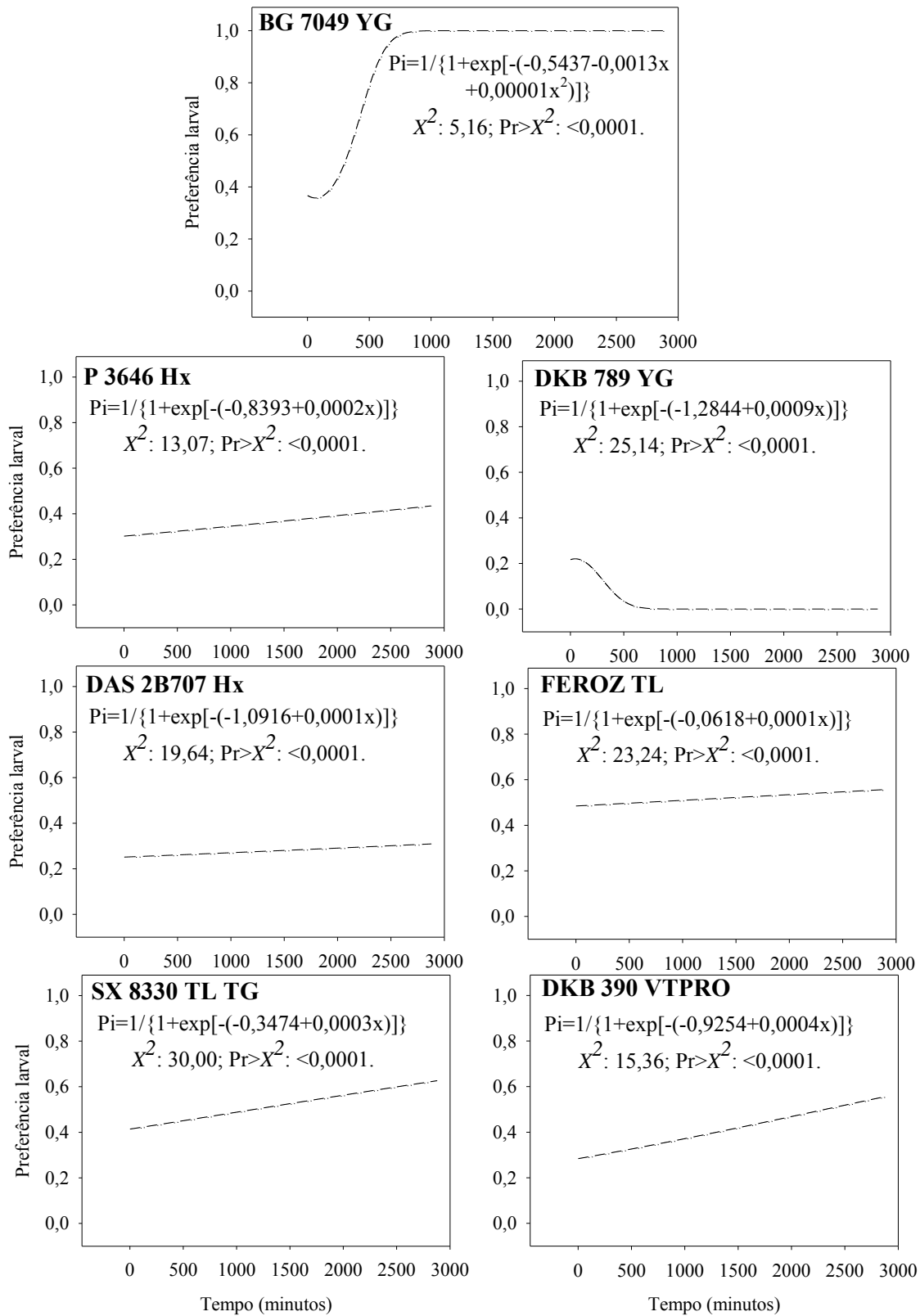
290  
 291  
 292

**Figura 3.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho convencional, em teste sem chance de escolha.

293 **Tabela 5.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho transgênico em  
 294 intervalos de tempo após sua liberação e massa seca consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2012.  
 295

Cultivares Transgênicas	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>											Massa Seca Consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	2880'	
SX 8330 TL TG	0,30 a	0,30 a	0,40 a	0,40 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,40 a	0,40 a	0,50 a	0,60 a	3,44 b
DAS 2B 707 HX	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,10 a	0,40 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	0,10 a	0,40 a	0,30 a	5,95 b
P3646 HX	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,40 a	0,20 a	0,20 a	0,50 a	0,30 a	0,40 a	0,40 a	0,60 a	5,67 b
BG 7049 YG	0,60 a	0,60 a	0,30 a	0,20 a	0,40 a	0,40 a	0,20 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,60 a	2,44 b
DKB 789 YG	0,30 a	0,30 a	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,40 a	0,60 a	0,70 a	4,68 b
FEROZ TL	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,40 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,60 a	15,82 a
DKB 390 VTPRO	0,40 a	0,40 a	0,30 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,30 a	0,20 a	0,20 a	0,40 a	0,60 a	3,32 b
F (Tratamento)	0,59 <sup>ns</sup>	0,59 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	1,03 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	1,33 <sup>ns</sup>	0,69 <sup>ns</sup>	0,97 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,61 <sup>ns</sup>	4,91 <sup>**</sup>
CV%	5,42	5,42	5,11	4,98	5,32	5,29	5,09	5,06	5,12	5,55	5,4	0,08

296 <sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados em log (x +5). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de  
 297 probabilidade.  
 298  
 299



300

301 **Figura 4.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho  
 302 transgênico, em teste sem chance de escolha.

303 **Tabela 6.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* recém-eclodidas atraídas por folhas de cultivares de milho convencional e  
 304 transgênico e porcentagem de dano em testes com e sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012.

Cultivares Convencionais	Teste com chance de escolha <sup>1</sup>		Teste sem chance de escolha <sup>1</sup>	
	Nº larvas atraídas 72 horas	Porcentagem de dano (%)	Nº larvas atraídas 72 horas	Porcentagem de dano (%)
AG 7088	1,10 a	4,20 a	2,40 a	21,00 b
BX 1293	2,10 a	20,70 a	2,70 a	33,00 ab
AG 5055	2,20 a	13,10 a	2,80 a	26,50 ab
IAC 8390	3,60 a	33,60 a	2,20 a	28,50 ab
TRUCK	3,00 a	18,90 a	2,90 a	46,00 a
SHS 7780	3,00 a	24,02 a	2,90 a	29,70 ab
DKB 370	2,80 a	20,50 a	2,80 a	39,50 a
2B 587	4,30 a	23,20 a	2,90 a	19,50 b
F (Tratamento)	1,44 <sup>ns</sup>	1,79 <sup>ns</sup>	2,46 <sup>ns</sup>	3,57 <sup>**</sup>
CV%	15,55	28,70	3,60	12,04
<b>Cultivares Transgênicas</b>				
SX 8330 TL TG	1,00 ab	0,07 b	2,10 a	0,95 ab
DAS 2B 707 HX	0,60 b	0,10 b	2,00 a	0,42 b
P3646 HX	1,60 ab	0,28 b	2,00 a	0,87 ab
BG 7049 YG	1,80 ab	0,25 b	2,10 a	1,93 ab
DKB 789 YG	2,00 ab	0,61 b	1,80 a	0,46 b
FEROZ TL	1,60 ab	4,73 a	2,00 a	3,39 a
DKB 390 VTPRO	2,50 a	0,56 b	1,30 a	0,29 b
F (Tratamento)	1,97 <sup>ns</sup>	8,47 <sup>**</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	3,11 <sup>**</sup>
CV%	11,15	11,83	7,58	13,13

305 <sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados em log (x +5). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de  
 306 probabilidade.

## 307 2.4 CONCLUSÕES

308

309 - Lagartas de 15 dias de idade de *D. saccharalis* consomem de maneira similar as cultivares  
310 de milho convencional, em testes com e sem chance de escolha;

311 - As lagartas recém-eclodidas proporcionam menor porcentagem de dano na cultivar  
312 convencional 2B 587 em teste sem chance de escolha;

313 - A cultivar transgênica Feroz é suscetível;

314 - Lagartas recém-eclodidas proporcionam menores porcentagens de dano nas cultivares  
315 transgênicas: DAS 2B707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO.

316

## 317 REFERÊNCIAS

318 ARAÚJO, J. R. et al. Nova dieta artificial para criação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.).  
319 **Saccharum STAB**, São Paulo, n. 36, p. 45-48, 1985.

320

321 BOIÇA JUNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-  
322 de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis*  
323 (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais Sociedade Entomológica do**  
324 **Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p.537-542, 1997.

325

326 CASTRO, B. A.; LEONARD, B. R.; RILEY, T. J. Management of feeding damage and  
327 survival southwestern corn borer and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with *Bacillus*  
328 *thuringiensis* transgenic field corn. **Journal of Economy Entomology**, Maryland, v. 97, n. 6,  
329 p. 2106-2116, 2004.

330

331 CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de  
332 grãos – Safra 2013/2014, Brasília, v.1, n.8, p. 1-96, 2014. Disponível em: <  
333 <http://www.conab.gov.br> > Acessado em: 04 set 2014.

334

335 CRUZ, I. A Broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil.  
336 **Documentos: Embrapa Milho e Sorgo**, nº 90, Sete Lagoas, 12p. 2007.

337

- 338 DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea*  
339 *saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 1, p. 1-7, 2012.  
340
- 341 DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray  
342 on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.114, n.3,  
343 p.161–169, 2005.  
344
- 345 FERREIRA, E. et al. Perdas de produção pela broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis* Fabr.  
346 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em genótipos de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária**  
347 **Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 2, p. 99-103, 2004.  
348
- 349 GEREMIAS, L. D. **Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no**  
350 **desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**  
351 **para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em**  
352 **milho.** 2008, 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em  
353 Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.  
354
- 355 HUANG, F. et al. Extended monitoring of resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab maize  
356 in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **GM Crops and Food: Biotechnology in**  
357 **Agriculture and the Food Chain**. Landes Bioscience: Texas, v. 3, n.3, p. 245-254; 2012.  
358
- 359 ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an  
360 increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.51, p.45–66,  
361 2006.  
362
- 363 MARTINS, J. F. da S. **Resistência de variedades de arroz à *Diatraea saccharalis***  
364 **(Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) e sua associação com características**  
365 **biofísicas e bioquímicas das plantas.** 1983.139 f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de  
366 concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,  
367 Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1983.  
368

- 369 MICHELOTTO, M.D. et al. Interação entre transgênicos (Bt) e inseticidas no controle de  
370 pragas-chave em híbridos de milho-safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo,  
371 v.78, n.1, p.71-79, 2011.
- 372
- 373 NASCIMENTO, J. B. et al. Resposta de diferentes genótipos de arroz (*Oryza sativa*) ao  
374 ataque da broca-do-colmo (*Diatraea saccharalis*). In: ANAIS DO CONGRESSO DE  
375 PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO- CONPEEX, 2010, Goiás. **Resumos...** UFG, 2010. p.  
376 5864-5868.
- 377
- 378 PARRA, J. R. P.; PANIZZI, A. R.; HADDAD, M. L. Índices nutricionais para medir  
379 consumo e utilização de alimentos por insetos. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base**  
380 **para o manejo integrado de pragas/** Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra.  
381 – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 2, p.37-90.
- 382
- 383 SAS INSTITUTE, SAS/Stat Users Guide. Cary, NC, 2006.
- 384
- 385 SILVA, F. S. Assistat – Assistência Estatística, versão 7.7. Disponível em:  
386 <<http://www.assistat.com>> Acesso em: 10 jul 2014.
- 387
- 388 SILVEIRA, L. C. P.; VENDRAMIM, J. D.; ROSSETTO, C. J. Não preferência para  
389 alimentação da lagarta-do-cartucho em milho. **Bragantia [online]**, Campinas, v. 57,  
390 n.1, 1998. Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0006-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87051998000100012&lng=en&nrm=iso)  
391 [87051998000100012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87051998000100012&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 28 nov. 2013.
- 392
- 393 SOUZA, J. R. **Resistência intrínseca de cultivares de cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis***  
394 **(Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e extrínseca ao parasitóide *Cotesia flavipes***  
395 **(Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae).** 2011. 83 f. Tese (Doutorado em Agronomia  
396 – Área de concentração em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
397 Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2011.
- 398
- 399

- 400 VENDRAMIM, J. D.; GUZZO, E. C. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição de  
401 insetos. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas/**  
402 Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação  
403 Tecnológica, 2009.cap. 25, p.1055-1105.  
404
- 405 WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. Manejo de pragas na cultura do sorgo. **Circular**  
406 **Técnica n° 27**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 25p. 2003.  
407
- 408 WILLIAMS, W. P.; BUCKLEY, P. M.; DAVES, C. A. Identifying Resistance in Corn to  
409 Southwestern Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae), Fall Armyworm (Lepidoptera:  
410 Noctuidae), and Corn Earworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Agricultural and**  
411 **Urban Entomology**, Washington, v. 23, n.2, p. 87–95, 2006.  
412



### **CAPÍTULO 3 – Não preferência para alimentação de *Diatraea saccharalis* em milho convencional e transgênico e efeitos da idade das plantas**

**Resumo** – A broca do colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), é um lepidóptero que ocasiona prejuízos em diversas gramíneas como cana-de-açúcar, milho, milheto, sorgo e arroz, contudo tem-se informações escassas relacionadas ao comportamento dessa praga na cultura do milho. Assim, objetivou-se verificar a não preferência para alimentação de *D. saccharalis* comparando cultivares convencionais e transgênicas de milho e a ação da proteína do milho Bt em diferentes idades da planta na escolha do hospedeiro. O experimento foi conduzido no Laboratório de Resistência de Plantas da UNESP/FCAV/Jaboticabal. As cultivares convencionais foram AG 7088, AG 5055, IAC 8390, TRUCK, SHS 7780 e 2B 587 e as transgênicas DAS 2B707 HX, DKB 789 YG, FERROZ TL e DKB 390 VTPRO. O milho foi semeado em vasos e mantido em casa de vegetação por 40 dias para os testes e em três grupos de idades (45; 55 e 70 dias) para uso restrito com as cultivares transgênicas. Após esse período realizou-se testes de não preferência para alimentação com e sem chance de escolha comparando-se materiais convencionais quanto transgênicos. Em todos os testes utilizaram-se dois estágios de desenvolvimento da praga: larvas recém-eclodidas e larvas com 15 dias de idade, com exceção ao experimento com diferentes idades de milho transgênico que foi constituído apenas por larvas de 15 dias. As variáveis analisadas foram: atratividade para colmos em tempos de 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60', 120', 360' e 1440', massa seca consumida, atratividade em 72h para seções foliares e porcentagem de dano. A cultivar SHS 7780 é suscetível e as cultivares DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707 apresentam resistência na categoria não preferência para alimentação à *D. saccharalis*. Em geral, as cultivares transgênicas DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707 são menos atrativas e consumidas em idade de 45 dias e mais consumidas aos 70 dias.

**Palavras-chave** – Broca do colmo, *Zea mays*, Antixenose, Tecnologia Bt, Resistência de plantas

### CHAPTER 3 – Non feeding preference of *Diatraea saccharalis* in conventional and transgenic maize and effects of plant age

**Abstract** – The sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), is a lepidopteran that causes damage in several grasses such as sugar cane, maize, millet, sorghum and rice, yet. Information about the behavior of this pest in the maize is scarce. In this perspective, the research aimed to determine the feeding preference of *D. saccharalis*. Was compared this behavior among conventional and transgenic maize cultivars and observed the action of the protein from Bt obtained at different ages of the plant in the choice of the host. The experiment was conducted at the Laboratory of Plant Resistance UNESP / FCAV / Jaboticabal. The cultivars conventional were: AG 7088; AG 5055; IAC 8390; TRUCK; SHS 7780 and 2B 587 and transgenic DAS 2B707 HX; DKB 789 YG; FERROZ TL and DKB 390 VTPRO. Maize was planted in pots and kept in a greenhouse for 40 days with the first tests and in three age groups (45, 55 and 70 days) for restricted use with transgenic cultivars. After this period took place in feeding preference with multiple and non-choice tests comparing conventional materials with transgenic. In all tests were used two developmental stages of the pest: newly hatched larvae and larvae 15 days old, except to experiment with different ages of transgenic maize that was comprised only of larvae 15 days. The variables analyzed were: attractiveness to stalk in times: 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60', 120', 360' and 1440' and dry matter consumed, attractiveness for 72h in leaf sections and percentage damage. The cultivar SHS 7780 is susceptible and DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG and DAS 2B 707 cultivars showed resistance in the category non-preference for feeding on *D. saccharalis*. In general those transgenic cultivars DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG and DAS 2B 707 are less attractive and consumed in 45 days old and consumed over 70 days.

**Keywords:** Sugarcane borer, *Zea mays*, Antixenosis, Bt Technology, Plant resistance

### 3.1 Introdução

A cultura do milho apresenta importância econômica em diversos países e, em diferentes setores da economia mundial. No Brasil, é cultivado de norte a sul, onde radiação solar, temperaturas e pluviosidade apresentam grande variação, refletindo de maneira direta na alta variabilidade da produtividade de grãos (MACHADO et al., 2013). No Brasil, segundo estimativas da Companhia Nacional de Abastecimento-CONAB (2014) para a safra 2013/2014 será de 75.191,1 mil toneladas do produto. Todavia é uma cultura que sofre a interferência de diversos agentes externos, que podem limitar a produtividade final do cultivo. Dentre alguns desses fatores que comprometem a produção, está o ataque por pragas como a broca do colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), responsável por prejuízos diretos ao fazerem galerias quando se alimentam do colmo das plantas jovens e indiretos, pois favorecem a entrada de organismos fitopatogênicos (GALLO et al., 2002; WAQUIL; VIANA; CRUZ, 2003). Esta praga ocorre em todo o hemisfério oeste onde a cana-de-açúcar é cultivada. Entretanto, existem outras plantas hospedeiras, como o milho, o sorgo e o arroz, de importância econômica, além de plantas selvagens com caules de diâmetros maiores (PINTO; CANO; SANTOS, 2006) que possibilitam a permanência de *D. saccharalis* nos campos agrícolas do país.

Além da adaptabilidade da praga aos diferentes hospedeiros, seu hábito alimentar dificulta extremamente a adoção do controle químico, uma vez que após uma ou duas semanas alimentando-se pela raspagem da folha da cana ou da epiderme do entrenó em formação, as larvas iniciam a perfuração da casca do colmo e, abrigam-se no seu interior (BOTELHO; MACEDO, 2002). Essa particularidade de sua biologia torna o método químico menos utilizado, direcionando ao método biológico seus melhores resultados conforme Erler (2010). Este autor relacionou que o controle biológico com a criação massal e liberação do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é o principal método para controle da broca.

Outra tecnologia que pode ser aliada ao controle biológico da broca é a utilização da transgenia que oferece proteção ao ataque de diversos lepidópteros-praga e recentemente, foi liberada no Brasil a comercialização de híbridos de milho Bt, integrando em seu genoma o gene *cry1Ab*, proveniente de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, que codifica a proteína com efeito tóxico sobre insetos da ordem Lepidoptera (MICHELOTTO et al., 2011b). Todavia o enfoque maior das pesquisas está voltado à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).

Waquil, Vilella e Foster (2002) avaliaram híbridos de milho Bt para resistência à lagarta-do-cartucho do milho e concluíram que os milhos Bt, expressando as toxinas Cry 1F e Cry 1Ab, reduziram a sobrevivência e o desenvolvimento em biomassa dessas larvas. Fernandes et al. (2003) avaliaram o efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre *S. frugiperda* e ratificaram menor densidade da praga ao longo do ciclo. Também Waquil, Boregas e Mendes (2008) atestaram a viabilidade de hospedeiros alternativos como área de refúgio para manejo da resistência de *S. frugiperda* em milho Bt.

Para *D. saccharalis* em condições brasileiras, estudos estão voltados à cultura da cana-de-açúcar (BOIÇA JÚNIOR; LARA; BELLODI, 1997; BOIÇA JÚNIOR; LEONELO; JESUS, 2011; CAMARGO et al., 2010; COSTA; COELHO E FRANCEZ; RIGOLIN-SÁ, 2010) e, são incipientes as investigações quanto ao comportamento de *D. saccharalis* em milho e sua interação com a transgenia. Araújo et al. (2011) concluíram em seus experimentos com cultivares de milho convencionais e transgênicas (Bt), que a ocorrência de *D. saccharalis* foi baixa, comprovada pela ausência de significância entre o número de internódios brocados e o comprimento das galerias entre os híbridos convencional e transgênico. Michelotto et al. (2011a) também demonstraram que os danos ocasionados por *D. saccharalis* nos colmos das plantas transgênicas, detiveram menor percentagem de plantas atacadas e menores tamanhos das galerias.

Souza (2013) avaliou a suscetibilidade de *D. saccharalis* à proteína Cry 1F de *Bacillus thuringiensis* Berliner e concluiu que os materiais testados com o evento TC1507 apresentaram alta atividade de controle para a broca.

Embora a expressão do gene Bt em plantas transgênicas tenha efeitos formidáveis sobre manejo de insetos praga, bem como a segurança ambiental, igualmente importante é a necessidade de seguir normas de biossegurança para tornar a tecnologia sustentável. A durabilidade da resistência a insetos em plantas transgênicas só pode ser garantida se as práticas de MIP forem seguidas (KUMAR; CHANDRA; PANDEY, 2008). Caso contrário, essa resistência das plantas aos insetos poderá ser perdida conforme Alcantara et al. (2011) abordaram haver resistência a proteína Cry 1Ab em populações da broca do milho, *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) nas Filipinas após a implantação generalizada do milho Bt na região.

A tecnologia Bt representa uma tática adicional ao controle de lepidópteros-praga, entretanto necessita de um manejo adequado para manter sua eficiência nos cultivos e permitir a consolidação de seus resultados, uma vez que o excesso de cultivos transgênicos e a inexistência de áreas de refúgio implicam no insucesso dessa tecnologia (MICHELOTTO et al., 2011b; WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008) Proporcionalmente, pesquisas que utilizem ou investiguem fontes de resistência em materiais não transgênicos e transgênicos devem ser incentivadas, uma vez que a ausência total ou parcial de tais informações relativas ao comportamento de *D. saccharalis* nessas cultivares em condições brasileiras, pode representar a perda dessa tática adicional de controle.

Neste cenário, objetivou-se avaliar a não preferência para alimentação de *D. saccharalis* em cultivares de milho convencional e transgênico e, a ação da proteína do milho Bt obtidas em plantas em idades diferentes.

### **3.2 Material e Métodos**

A pesquisa foi realizada em casa de vegetação e no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP - Campus de Jaboticabal, no período de agosto de 2012 a fevereiro de 2013. Os insetos e as posturas de *D.*

*saccharalis* foram adquiridos junto à empresa Biocontrol, localizada no município de Sertãozinho, SP, e quando necessário, a broca foi criada em dieta artificial conforme metodologia de Hensley e Hammomd (1968) modificada por Araújo et al. (1985).

Os experimentos foram realizados utilizando lagartas de *D. saccharalis* com 15 dias de idade e lagartas recém-eclodidas para comparar cultivares de milho convencional e transgênico quanto aos níveis de resistência à praga. As cultivares avaliadas neste estudo estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Cultivares de milho convencionais e transgênicas utilizadas nos testes, comparando a não preferência para alimentação de *Diatraea saccharalis*. Jaboticabal/SP.2012/2013.

<b>Cultivares Convencionais</b>			
*T1= AG 7088	T2= AG 5055	T3= IAC 8390	T4= TRUCK
T5= SHS 7780	T6= 2B 587		
<b>Cultivares Transgênicas</b>			
	<b>Evento</b>	<b>Genes</b>	<b>Praga-Alvo</b>
T7= DAS 2B707 HX	TC 1507	<i>cry1F</i>	Broca-da-cana; lagarta-do-cartucho
T8= DKB 789 YG	Mon810	<i>cry1Ab</i>	Broca da cana
T9= FERROZ TL	Bt11	<i>cry1Ab</i>	Broca da cana
T10=DKB390 VTPRO	Mon89034	<i>cry2Ab2; cry1A. 105</i>	Broca-da-cana; lagarta-do-cartucho; lagarta-da-espiga

\*T = Tratamentos

O milho foi cultivado em vasos com capacidade de 3 litros contendo terra e esterco na proporção 3: 1 e, 40 dias após o plantio foi conduzido os testes em laboratório, sob temperatura média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12h, para avaliar a preferência de alimentação da broca, em duas situações:

**Teste com chance de escolha.** Nestes ensaios foram retirados pedaços de colmos das plantas medindo aproximadamente 5 cm (teste em lagartas de 15 dias), todavia foram submetidos a cortes para adequação em peso com suas referidas alíquotas e, seções foliares correspondendo a  $3\text{cm}^2$  de área (teste em lagartas recém-eclodidas). Em ambos os testes, as cultivares foram dispostas equidistantes ao centro de recipientes circulares de vidro, tendo dimensões diferenciadas para

lagartas de 15 dias (25,5 cm de diâmetro e 6 cm de altura, fechados por placa quadrada de vidro com 29,5 cm) e lagartas recém-eclodidas (placa de Petri com 15 cm de diâmetro x 2,5 cm de altura). No interior de cada recipiente foi depositado um círculo de papel filtro umedecido para garantir a umidade dos materiais vegetais durante o ensaio. A quantidade de lagartas liberadas obedeceu ao critério de uma lagarta por colmo de cultivar (SOUZA, 2011) para lagartas com 15 dias de idade, totalizando 100 lagartas. Para as seções foliares adotou-se a quantidade de 3 lagartas por cultivar, ou seja, 300 lagartas. Paralelamente, para avaliar a massa seca consumida por lagartas de 15 dias foi produzida uma alíquota correspondente a cada pedaço de colmo das cultivares, que permaneceu nas mesmas condições de laboratório dos testes. O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados com dez tratamentos e dez repetições.

**Teste sem chance de escolha.** Este teste obedeceu às mesmas medidas do experimento anterior quanto ao tamanho de colmos, folhas e formação das alíquotas, entretanto as amostras foram individualizadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura e aplicou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com os mesmos tratamentos e repetições acima relacionados.

**Avaliação e análise dos dados.** Os parâmetros avaliados nos testes com lagartas de 15 dias foram: atratividade para os colmos em tempos de 1', 3', 5', 10', 15', 30', 60', 120', 360' e 1440' e massa seca consumida, obtida pela diferença entre a massa seca do colmo ofertado e massa seca da alíquota. Para as lagartas de 1º instar foram avaliadas a atratividade total, ou seja, após 72h de liberação da praga e a porcentagem de dano, obtida a partir da média atribuída por dois avaliadores.

Os dados obtidos nos testes de não preferência para alimentação foram submetidos ao teste de normalidade e quando não atenderam à curva de normalidade, foram transformados em  $\log(x + 5)$ . Em seguida, realizou-se análise de variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey, no programa ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 2014).

Os valores relativos à presença dos indivíduos (lagartas) em cada tratamento, nas condições com e sem chance de escolha, foram submetidos à regressão logística, ajustando os dados à distribuição binomial, através do

procedimento GENMOD (SAS INSTITUTE, 2006). A proporção de insetos em cada tratamento (cultivares) prevista pelo modelo foi calculada através da fórmula:

$$P_i = 1 / (1 + \exp(-(b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2^2 + \dots + b_n x_n)))$$

onde,  $P_i$  = proporção de insetos prevista,  $\exp$  = função exponencial,  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$  e  $b_n$  = são os coeficientes de regressão,  $x$  = tempo (minutos).

Além dos experimentos acima relacionados, foi instalado bioensaio (cultivares versus idade das plantas) com os mesmos procedimentos acima relacionados para avaliar três das cultivares transgênicas utilizadas no experimento anterior: DAS 2B707 HX; DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO; apresentando três idades diferentes (45, 55 e 70 dias), o que representou um total de nove tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de dois fatores (cultivares versus idade). Nesse experimento, avaliou-se a não preferência para alimentação da broca do colmo com utilização de lagartas com 15 dias de idade (atratividade de 72 horas) e massa seca consumida (144 horas), obtendo-se esses dados, respectivamente, aos 3 dias e ao sétimo dia do início do experimento.

### 3.3 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos nos testes com chance de escolha em cultivares de milho convencionais e transgênicas impossibilitaram destacar cultivares quanto aos níveis de resistência na categoria não preferência para alimentação, pois não houve diferença significativa entre as dez cultivares tanto nos parâmetros de atratividade em diferentes intervalos de tempo, assim como no índice de massa seca consumida pelas lagartas (Tabela 2). Silva et al. (2003) pautaram em sua pesquisa com *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) em genótipos de arroz, que a antixenose ou não preferência em teste com chance de escolha poderia ser superestimada devido à interferência dos circunvizinhos mais preferidos pelo inseto durante o processo de seleção hospedeira.



**Tabela 2.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis*, atraídas por cultivares de milho convencionais e transgênicas em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>										Massa seca consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	
AG 7088	0,50 a	0,60 a	0,80 a	0,70 a	0,70 a	0,80 a	0,80 a	1,10 a	1,20 a	0,70 a	16,43 a
AG 5055	0,30 a	0,50 a	0,60 a	0,60 a	0,70 a	0,60 a	0,80 a	0,80 a	0,50 a	0,50 a	11,71 a
IAC 8390	0,50 a	0,80 a	0,90 a	1,00 a	0,80 a	1,40 a	1,50 a	1,40 a	1,00 a	1,30 a	31,00 a
TRUCK	0,30 a	0,30 a	0,70 a	0,70 a	0,90 a	0,70 a	0,60 a	0,70 a	0,60 a	1,00 a	29,93 a
SHS 7780	0,50 a	0,80 a	1,00 a	1,30 a	1,20 a	1,20 a	1,00 a	0,80 a	0,80 a	1,00 a	23,94 a
2B 587	0,70 a	0,70 a	1,20 a	1,40 a	1,80 a	1,60 a	1,30 a	1,60 a	1,80 a	1,30 a	35,47 a
DAS 2B707 HX -T	0,20 a	0,10 a	0,20 a	0,30 a	0,40 a	0,30 a	0,60 a	0,70 a	0,50 a	0,30 a	5,40 a
DKB 789 YG -T	0,10 a	0,20 a	0,20 a	0,30 a	0,30 a	0,40 a	0,70 a	0,60 a	0,70 a	1,00 a	17,84 a
FEROZ TL -T	0,30 a	0,50 a	0,90 a	1,00 a	0,90 a	1,00 a	0,80 a	1,10 a	1,30 a	1,40 a	38,55 a
DKB 390 VTPRO -T	0,20 a	0,40 a	0,80 a	0,70 a	0,70 a	1,10 a	0,80 a	0,40 a	0,80 a	0,70 a	14,35 a
F (Tratamento)	0,81 <sup>ns</sup>	0,77 <sup>ns</sup>	0,92 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	1,23 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	0,57 <sup>ns</sup>	0,98 <sup>ns</sup>	1,28 <sup>ns</sup>	1,28 <sup>ns</sup>	2,30 *
CV %	6,49	8,26	9,62	9,92	10,34	11,26	10,83	10,90	10,06	8,92	0,28

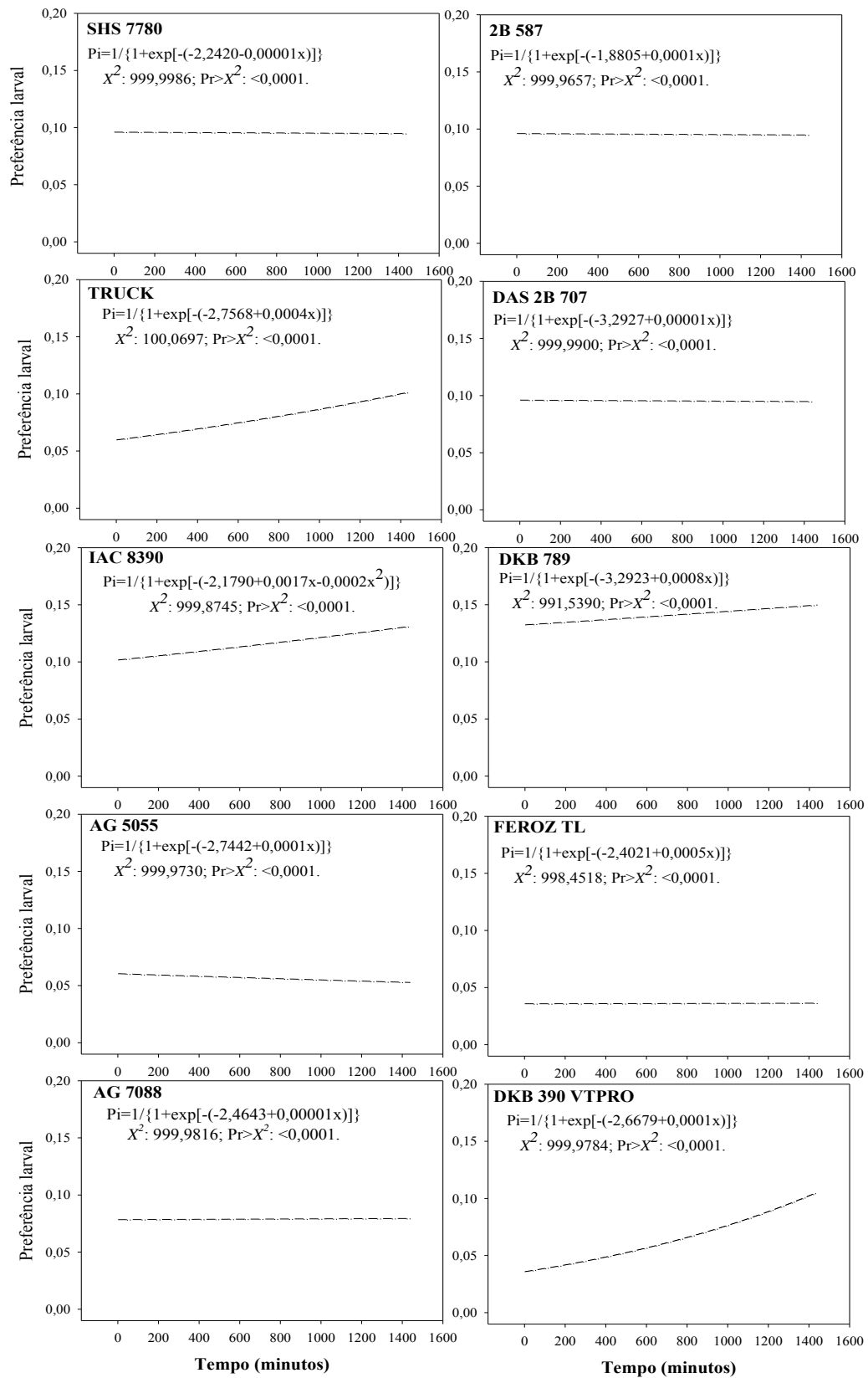
<sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados log (x + 5). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Aplicando a análise de regressão no mesmo teste foi possível verificar um comportamento diferenciado conforme visualizado na Figura 1, pois todas as cultivares foram atrativas, em maior ou menor intensidade. Esse hábito pode corresponder justamente ao fato das larvas terem grande quantidade de alimento disponível. Mello e Silva-Filho (2002) definiram a interação planta-inseto como um sistema dinâmico, sujeito a contínuas variações e mudanças. Assim as plantas desenvolveriam mecanismos para reduzir o ataque de insetos e, estes adotariam várias estratégias para superar as barreiras defensivas das plantas.

Duck e Évola (1997) reportaram que a antixenose ou não preferência poderia estar relacionada além de fatores físicos, à produção de produtos químicos sintetizados pela planta para repelir insetos ou alterar o seu comportamento de tal forma que a sua reprodução e / ou danos a planta seriam reduzidos.

Quando o teste de preferência foi aplicado sem chance de escolha conforme dados da Tabela 3 houve diferença estatística nos intervalos iniciais de avaliação. Ao tempo de 1 minuto após a liberação das larvas de 15 dias de idade, a cultivar AG 7088 (convencional) foi a menos atrativa e as mais atrativas ou excitantes foram SHS 7780 e DAS 2B707 HX, ambas com a mesma média de 0,80 lagartas/cultivar. Essa atratividade da cultivar transgênica DAS 2B707 HX pode ser justificada, pois o gene expresso é *cry 1F*, menos específico à praga como as demais cultivares, uma vez que o sucesso da transgenia está relacionado além de outros pontos, à sua alta especificidade com o hospedeiro (praga alvo) conforme relatado por Bauer (1995).

No intervalo de 3 minutos (Tabela 3), o comportamento mais atrativo se manteve para SHS 7780 (convencional), como também as cultivares transgênicas DKB 789 YG, Feroz TL e DKB 390 VTPRO foram igualmente atrativas às larvas de *D. saccharalis*, sendo as três últimas portadoras de transgenia. A cultivar que apresentou menor atratividade nesse intervalo de tempo foi a cultivar convencional 2B 587. No transcorrer do experimento, os materiais mantiveram-se semelhantes e não foi constatada diferença entre as cultivares. Esse resultado corrobora com López et al. (2013) que não encontraram efeito antixenótico quando fêmeas de *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre, 1827) (Lepidoptera: Noctuidae) foram liberadas para ovipositar em plantas Bt e não-Bt em teste sem chance de escolha.



**Figura 1.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho convencionais e transgênicas, em teste com chance de escolha.

**Tabela 3.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por colmos de cultivares de milho convencionais e transgênicas em intervalos de tempo após sua liberação e massa seca de colmo consumida, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Tempo (minutos) após a liberação das lagartas <sup>1</sup>										Massa seca consumida (mg) <sup>1</sup>
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	60'	120'	360'	1440'	
AG 7088	0,10 b	0,70 ab	0,70 a	0,90 a	0,80 a	0,90 a	0,80 a	0,90 a	0,90 a	1,00 a	34,58 ab
AG 5055	0,40 ab	0,70 ab	0,80 a	0,80 a	0,80 a	0,80 a	0,80 a	0,80 a	0,80 a	0,90 a	20,70 bcd
IAC 8390	0,30 ab	0,60 ab	0,70 a	0,90 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	34,09 ab
TRUCK	0,40 ab	0,70 ab	0,60 a	0,70 a	0,80 a	0,70 a	0,70 a	0,70 a	0,80 a	1,00 a	31,38 ab
SHS 7780	0,80 a	0,90 a	0,80 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	39,88 a
2B 587	0,40 ab	0,30 b	0,40 a	0,50 a	0,70 a	0,90 a	0,70 a	0,90 a	0,80 a	0,70 a	30,38 abc
DAS 2B707 HX - T	0,80 a	0,80 ab	1,00 a	0,90 a	0,90 a	1,00 a	0,90 a	0,90 a	1,00 a	1,00 a	4,42 d
DKB 789 YG -T	0,70 ab	0,90 a	0,80 a	0,90 a	1,00 a	0,90 a	0,90 a	0,90 a	0,80 a	1,00 a	12,69 cd
FEROZ TL -T	0,70 ab	0,90 a	0,70 a	0,80 a	0,90 a	0,80 a	0,80 a	0,90 a	1,00 a	1,00 a	32,48 ab
DKB 390 VTPRO -T	0,60 ab	1,00 a	0,90 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a	0,90 a	0,90 a	1,00 a	0,80 a	6,06 d
F (Tratamento)	2,48 *	2,41 *	1,45 <sup>ns</sup>	1,78 <sup>ns</sup>	1,25 <sup>ns</sup>	1,25 <sup>ns</sup>	0,89 <sup>ns</sup>	0,75 <sup>ns</sup>	1,21 <sup>ns</sup>	2,26 *	10,19**
CV %	5,04	4,28	4,52	3,68	3,20	3,06	3,73	3,27	2,92	2,31	0,16

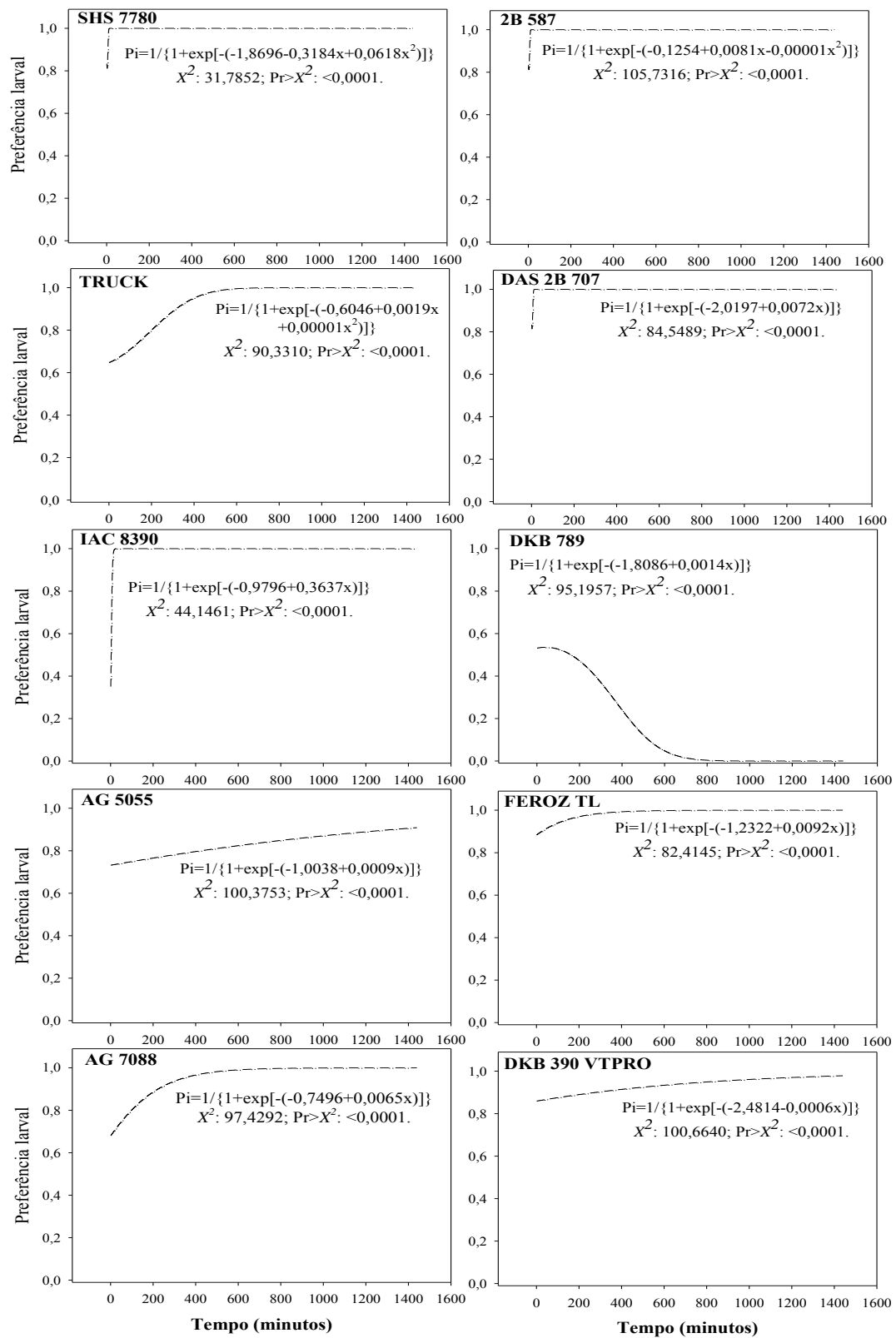
<sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados  $\log(x + 5)$ . Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. T = cultivar transgênica.

Contudo deve-se ressaltar que as larvas inicialmente foram atraídas indistintamente para ambos os materiais (convencionais e transgênicos), mas logo após iniciar sua alimentação nos transgênicos, as larvas cessaram a ingestão dos colmos. Observações similares foram encontradas por Dutton, Romeis e Bigler (2005) avaliando o efeito do milho Bt em *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae), onde as larvas após se alimentarem de plantas transgênicas ou pulverizadas com Bt, apresentaram uma tendência a afastar-se da planta e fugir das gaiolas.

Para a variável de massa seca consumida (Tabela 3) as cultivares DAS 2B707 HX (gene *cry 1F*) e DKB 390 VTPRO (gene *cry 2Ab2; cry 1A.105*), foram as menos consumidas com 4,42 e 6,06 mg, respectivamente. Resultados condizentes com pesquisa de Michelloto et al. (2011a), onde o transgênico DKB 390 apresentou menor dano (3,35%) para lagarta-do-cartucho. No entanto, o maior consumo observado ocorreu na cultivar SHS 7780 (39,88 mg) e, as cultivares IAC 8390 (34,09 mg), Truck (31,38 mg), 2B 587 (30,38 mg) e Feroz TL (32,48 mg) apresentaram consumo intermediário entre os valores máximos e mínimos dos materiais testados.

A análise de regressão dos dados no teste sem chance possibilitaram observar a variação comportamental das larvas de *D. saccharalis* ao longo das avaliações conforme Figura 2. As cultivares convencionais AG 7088 e 2B 587 e as transgênicas Feroz TL e DAS 2B707 HX se comportaram como atrativas às lagartas de 15 dias a partir do segundo intervalo de tempo; mantendo-se atraentes ou excitantes até o encerramento das avaliações. Nas cultivares IAC 8390, AG 5055 e DKB 789 YG foi necessário maior tempo de exposição com os colmos, para que iniciassem o processo alimentar. Diferentemente do que ocorreu com a cultivar SHS 7780 que a partir do terceiro intervalo, apresentou características deterrentes orientando as lagartas para a não alimentação.

A cultivar DKB 390 VTPRO também apresentou um efeito contrário à alimentação das lagartas de *D. saccharalis*, mas apenas aos 360 minutos de exposição. De acordo com Vendramim e Guzzo (2009) a não preferência ou antixenose ocorre quando a variedade não dispõe de características adequadas para servir de hospedeiro ao inseto, provocando neste uma reação negativa durante o processo de seleção hospedeira, fato semelhante ao encontrado nessa pesquisa.



**Figura 2.** Regressão polinomial da preferência larval de *D. saccharalis* por cultivar de milho convencionais e transgênicas, em teste sem chance de escolha.

Em geral, as cultivares transgênicas apresentaram menores médias de consumo, com exceção da cultivar Feroz TL que apesar de ser direcionada ao controle da broca do colmo, possuindo o gene *cry 1Ab* obteve média superior à maioria das cultivares convencionais. Huang, Leonard e Gable (2006) também atestaram menor suscetibilidade da referida praga à proteína Cry 1Ab.

Quando os resultados foram analisados em larvas recém-eclodidas de *D. saccharalis* em folhas de milho (Tabela 4), o total de larvas atraídas em 72 horas de exposição para teste com chance de escolha não houve diferença estatística entre as cultivares convencionais e transgênicas. Entretanto, analisando a porcentagem de dano promovido pela broca, observou-se que a cultivar SHS 7780, com a maior porcentagem (16,32%), diferiu da cultivar DKB 789 YG com menor porcentagem (0,56%). Os demais materiais mantiveram-se intermediários. Tais resultados foram similares ao comportamento desse lepidóptero com idade de 15 dias no teste sem chance anteriormente realizado (Tabela 3). Essa diferença no resultado apresentado nas larvas recém-eclodidas pode estar relacionado à sua maior sensibilidade ao Bt, uma vez que situação similar foi encontrada por Dutton, Romeis e Bigler (2005) que observaram em seus resultados maior sensibilidade de larvas de 1º e 2º instares de *S. litoralis* ao milho Bt.

**Tabela 4.** Número médio de lagartas de *Diatraea saccharalis* recém-eclodidas atraídas por cultivares de milho convencionais e transgênicos e, porcentagem de dano em testes com e sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Teste com chance de escolha <sup>1</sup>		Teste sem chance de escolha <sup>1</sup>	
	Número de larvas atraídas 72 horas	Porcentagem de dano (%)	Número de larvas atraídas 72 horas	Porcentagem de injúria (%)
AG 7088	1,60 a	2,63 ab	2,70 a	9,80 a
AG 5055	3,10 a	8,87 ab	2,60 a	9,10 a
IAC 8390	1,60 a	9,31 ab	2,70 a	12,41 a
TRUCK	3,40 a	9,53 ab	1,70 ab	0,20 c
SHS 7780	3,10 a	16,32 a	2,40 ab	16,80 a
2B 587	1,40 a	4,30 ab	2,10 ab	8,21 ab
DAS 2B707 HX - T	1,70 a	1,21 ab	1,80 ab	0,63 c
DKB 789 YG - T	0,80 a	0,56 b	1,20 b	0,27 c
FEROZ TL - T	1,20 a	1,70 ab	1,90 ab	1,45 bc
DKB 390 VTPRO - T	2,30 a	10,93 ab	1,80 ab	0,15 c
F (Tratamento)	1,34 <sup>ns</sup>	2,34 *	2,69 **	16,16 **
CV %	16,71	31,72	7,09	18,79

<sup>1</sup> Para análise os dados foram transformados em log (x + 5). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. T = cultivar transgênica.



Para o teste sem chance de escolha (Tabela 4), as larvas recém-eclodidas foram mais atraídas pelas cultivares convencionais AG 7088, AG 5055 e IAC 8390 e, a cultivar transgênica DKB 789 YG destacou-se como a menos atrativa.

Quanto à porcentagem de dano houve diferença estatística entre as cultivares (Tabela 4): SHS 7780 apresentou a maior porcentagem (16,80%) confirmando os resultados do teste com chance, mesmo não diferindo das cultivares IAC 8390 (12,41%), AG 7088 (9,80%) e AG 5055 (9,10%). As cultivares 2B 587 e Feroz TL apresentaram valores de danos intermediários e as transgênicas DAS 2B707 HX (0,63%), DKB 789 YG (0,27%) e DKB 390 VTPRO (0,15%) juntamente com a convencional Truck (0,20%) não diferiram entre si e preservaram as menores porcentagens de dano. Resultado similar foi demonstrado por Daves, Williams e Davis (2007) onde menos larvas sobreviveram em híbridos resistentes do que no híbrido suscetível, especialmente aos 7, 10, e 14 dias após a infestação, porque o crescimento larval foi impactado negativamente pelos híbridos resistentes.

Na segunda etapa dos experimentos, avaliou-se o desempenho de *D. saccharalis* nas três cultivares de milho transgênico em três idades das plantas conforme Tabela 5, em teste com chance de escolha. Constatou-se que não houve diferenças entre as três cultivares aos 45 e 70 dias de idade, mas a cultivar DKB 789 YG diferiu das demais aos 55 dias de idade apresentando maior proporção de lagartas por cultivar. Comparando-se as cultivares dentro das três idades (letras maiúsculas), percebeu-se que DAS 2B707 HX não diferiu em nenhuma das idades avaliadas; assim como a cultivar DKB 789 YG não diferiu nas idades de 45 e 70 dias, apenas na idade de 55 dias apresentou maior atratividade. Para a cultivar DKB 390 VTPRO não houve diferença nas duas idades iniciais (45 e 55 dias) e apenas no período de 70 dias apresentou maior proporção de lagartas. Resultados de Castro, Leonard e Riley (2004) reportaram que genótipos de milho podem ter resistência as brocas do milho ou da cana-de-açúcar à medida em que as plantas amadurecem, independentemente de serem ou não portadoras de genes Bt.

**Tabela 5.** Número médio de lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por cultivares de milho transgênicas em três idades diferentes, por período 72 horas após sua liberação, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares Transgênicas	Idades <sup>1,2</sup>		
	45	55	70
DAS 2B707 HX	8,10 aA	7,40 bA	5,90 aA
DKB 789 YG	8,59 aB	17,15 aA	6,20 aB
DKB 390 VTPRO	3,70 aB	4,20 bB	10,68 aA
CV (%)= 61,28			

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>2</sup> dms para colunas = 5,2339 dms para linhas = 5,2339.

Quando foi analisada a massa seca de colmo consumida pelas larvas por período de 144 horas, em teste com chance de escolha (Tabela 6) foi verificado que as três cultivares não apresentaram diferenças na idade de 45 dias e, no período de 55 dias o consumo manteve-se similar à proporção de insetos atraídos, com o material DKB 789 YG novamente diferindo dos demais. Na idade de 70 dias, as cultivares DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO foram semelhantes no consumo e diferiram apenas do material DAS 2B707 HX, que deteve menor consumo.

Analisando as cultivares entre as três idades de avaliação (letras maiúsculas) (Tabela 6), a cultivar DAS 2B707 HX não diferiu nas três idades de avaliação. No entanto, a cultivar DKB 789 YG diferiu com a idade de 45 dias das demais, apresentando menor consumo nessa condição, e a cultivar DKB 390 VTPRO foi mais consumida no período de 70 dias de idade. De acordo com Moré, Trumper e Prola (2003) o estágio fenológico de plantas milho pode afetar a preferência de oviposição de *D. saccharalis*, demonstrando que o número médio de massas de ovos por planta foi baixo ou nulo em plantas em estádios fenológicos mais jovens que V9. Logo a idade fenológica do hospedeiro pode interferir na preferência por oviposição e, conseqüentemente, na alimentação das larvas.

**Tabela 6.** Massa seca de colmo consumida (mg) por larvas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, em cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 144 horas após sua liberação, em teste com chance de escolha. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivares Transgênicas	Idades <sup>1,2</sup>		
	45	55	70
DAS 2B707 HX	19,00 aA	25,40 bA	26,10 bA
DKB 789 YG	11,60 aB	45,00 aA	45,60 aA
DKB 390 VTPRO	12,60 aB	17,90 bB	44,60 aA
CV (%) = 54,11			

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>2</sup> dms para colunas = 0,0160 dms para linhas = 0,0160.

Os resultados também foram avaliados em teste sem chance de escolha (Tabela 7), que demonstrou diferença significativa apenas para a cultivar DAS 2B707 HX na idade de 45 dias (menor atratividade). Nos demais tratamentos não obteve-se diferença na proporção de lagartas atraídas (letras minúsculas).

**Tabela 7.** Número médio de lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, atraídas por cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 72 horas após sua liberação, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares Transgênicas	Idades <sup>1,2</sup>		
	45	55	70
DAS 2B707 HX	7,66 bB	9,50 aAB	9,80 aA
DKB 789 YG	11,03 aA	10,50 aA	9,55 aA
DKB 390 VTPRO	9,92 aA	8,96 aA	9,16 aA
CV (%) = 20,45			

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>2</sup> dms para colunas = 2,0911 dms para linhas = 2,0911.

Fato similar ocorreu quando se comparou as cultivares entre as três idades de avaliação (letras maiúsculas) (Tabela 7), a cultivar DAS 2B707 HX não diferiu entre os períodos de 45 e 55 dias de idade, mas apresentou diferença entre 45 e 70 dias de idade, possuindo maior atratividade no período de 70 dias, provavelmente porque os mecanismos de defesa podem variar entre as mesmas espécies de plantas e em diferentes estádios de desenvolvimento (SANTIAGO; BARROS-RIOS; MALVAR,

2013). Os demais materiais não obtiveram diferenças significativas quanto à esse parâmetro.

Para o quesito massa seca de colmo consumida pelas larvas de *D. saccharalis* em teste sem chance de escolha (Tabela 8) observou-se que não houve diferença entre as cultivares com 45 dias e 70 dias de idade, mas nas cultivares DAS 2B707 HX e DKB 789 YG em 55 dias de idade essa diferença foi observada, tendo tais materiais maior consumo quando comparado a cultivar DKB 390 VTPRO.

**Tabela 8.** Massa seca de colmo consumida (mg) por larvas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, em cultivares de milho transgênicas de três idades diferentes e por período 144 horas após sua liberação em teste sem chance de escolha. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares Transgênicas	Idades <sup>1,2</sup>		
	45	55	70
DAS 2B707 HX	6,80 aB	23,30 aA	31,00aA
DKB 789 YG	13,80 aB	25,40 aA	28,50 aA
DKB 390 VTPRO	7,20 aB	10,40 bB	24,70 aA
CV (%)=40,95			

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>2</sup> dms para colunas = 0,0083 e dms para linhas = 0,0083.

Quando o consumo foi avaliado para cada cultivar dentro das três idades (Tabela 8) verifica-se que a cultivar DAS 2B707 HX foi menos consumida quando a planta estava com 45 dias de idades, diferindo das demais (55 e 70 dias). A cultivar DKB 789 YG expôs padrão semelhante, diferindo da idade aos 45 dias (menor consumo) quando comparada às demais idades (maior consumo). Contudo a cultivar DKB 390 VTPRO não apresentou diferença quando o consumo ocorreu com 45 e 55 dias de idades, mas foi estatisticamente superior em plantas com 70 dias de idade, podendo-se inferir que a resistência desta cultivar foi reduzida ou limitada em plantas com 70 dias de idade.

### 3.4 Conclusões

- A cultivar SHS 7780 é suscetível à *D. saccharalis*;
- As cultivares DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707 apresentam resistência na categoria não preferência para alimentação à *D. saccharalis* e,
- As cultivares transgênicas DKB 390 VTPRO, DKB 789 YG e DAS 2B 707 são menos atrativas e consumidas em idade de 45 dias e mais consumidas aos 70 dias.

## Referências

ALCANTARA, E.; ESTRADA, A.; ALPUERTO, V.; HEAD, G. Monitoring Cry1Ab susceptibility in Asian corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt corn in the Philippines. **Crop Protection**, Guildford, v.30, p. 554-559, 2011.

ARAÚJO, J. R.; BOTELHO, P. S. M.; ARAÚJO, S. M. S. S.; ALMEIDA, L.C.; DEGASPARI, N. Nova dieta artificial para criação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.). **Saccharum STAB**, São Paulo, n. 36, p. 45-48, 1985.

ARAÚJO, L. F.; SILVA, A. G.; CRUZ, I.; CARMO, E. L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M. M. P.; RATTES, J. F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico *Bt*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.10, n.3, p. 205-214, 2011.

BAUER, LS. 1995. Resistance: a threat to the insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.78, p. 415-443, 1995.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p.537-542, 1997.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; LEONELO, A. F.; JESUS, F. G. Dietas artificiais incorporadas ou não a colmos triturados de variedades de cana-de-açúcar na biologia de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 39-48. 2011.

BOTELHO, P. S.M.; MACEDO, N. Casos de sucesso de controle biológico aplicados no Brasil '*Cotesia flavipes* para controle de *Diatraea saccharalis*'. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002, cap. 4, p. 409-425.

CAMARGO, M. S.; KORNDÖRFER, G. H.; FOLTRAN, D. E.; HENRIQUE, C. M.; ROSSETTO, R. Absorção de silício, produtividade e incidência de *Diatraea saccharalis* em cultivares de cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 4, p.937-944, 2010.

CASTRO, B. A.; LEONARD, B. R.; RILEY, T. J. Management of feeding damage and survival southwestern corn borer and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with *Bacillus thuringiensis* transgenic field corn. **Journal of Economy Entomology**, Maryland, v. 97, n. 6, p. 2106-2116, 2004.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira de grãos – Safra 2013/2014, Brasília, v.1, n.8, p. 1-96, 2014. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br> > Acessado em: 04 set 2014.

COSTA, D. M.; COELHO E FRANCEZ, A. C.; RIGOLIN-SÁ, O. Biologia da broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Lepidoptera: Crambidae) em dieta artificial. **Ciência et Praxis**, Passos, v. 3, n. 5, p. 13-16. 2010.

DAVES, C. A.; WILLIAMS, W. P.; DAVIS, F. M. Impact of plant resistance on southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) biology and plant damage. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, n. 3, p. 969-975, 2007.

DUCK, N.; EVOLA, S. Use of transgenes to increase host plant resistance to insects: opportunities and challenges. In: CAROZZI, N. B.; KOZIEL, M. G. (Ed.) **Advances in Insect Control: the role of transgenic plants**, Taylor & Francis Ltd – London, 1997, cap. 1, p. 1-20.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.114, n.3, p.161–169, 2005.

ERLER, G. **Controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) através de isca tóxica**. 2010. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

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.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, S. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p., 2002.

HUANG, F.; LEONARD, B. R.; GABLE, R. H. Comparative Susceptibility of European Corn Borer, Southwestern Corn Borer, and Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab Protein in a Commercial *Bacillus thuringiensis* Corn Hybrid. **Journal of Economic Entomology**, Maryland, v. 99, n.1, p.194-202, 2006.

KUMAR, S.; CHANDRA, A.; PANDEY, K. C. *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic crop: An environment friendly insect-pest management strategy. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v.29, n. 5, p.641-653, 2008.

LOPEZ, C.; HERNANDEZ-ESCARREÑO, G; EIZAGUIRRE, M.; ALBAJES, R. Antixenosis and larval and adult dispersal in the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*, in relation to Bt maize. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.149, n.3, p. 256–264, 2013.

MACHADO, J. R. A.; GUIMARÃES, L. J.M.; GUIMARÃES, P. E. O.; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P.; SILVA, A. R.; MEIRELLES, W. F. Comportamento de variedades de milho em três épocas de semeadura no Norte do Rio Grande do Sul. **Comunicado Técnico nº 206**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 9 p., 2013.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms: minireview. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v.14, n.2, p.71-81, 2002.

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, 2011a.

MICHELOTTO, M.; FREITAS, R.; FINOTO, E.; MARTINS, A. L.; DUARTE, A. Milho: tecnologia protetora. **Revista Cultivar-Grandes Culturas**, Pelotas, nº 145, p.36-38, 2011b.

MORE', M.; TRUMPER, E. V.; PROLA, M. J. Influence of corn, *Zea mays*, phenological stages in *Diatraea saccharalis* F. (Lep. Crambidae) oviposition. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.127, n. 9-10, p.512–515, 2003.



PINTO, A. S.; CANO, M. A. V.; SANTOS, E. M. A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. In: Alexandre de Sene Pinto. (Org.). **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Boletim Técnico Biocontrol: Sertãozinho, p.15-20, 2006.

SANTIAGO, R.; BARROS-RIOS, J.; MALVAR, R. A. Impact of cell wall composition on maize resistance to pests and diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 14, n.4, p.6960-6980; 2013.

SAS INSTITUTE, SAS/Stat Users Guide. Cary, NC, 2006.

SILVA, F. F.; MARTINS, J. F.; GRÜTZMACHER, A.D.; STORCH, G.; AZEVEDO, R.; GIOLO, F. P. Avaliação da resistência de arroz a *Oryzophagus oryzae* com e sem chance de escolha da planta hospedeira. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 135-140, 2003.

SILVA, F. S. Assitat .- Assistência Estatística, versão 7.7. Disponível em: <<http://www.assistat.com>> Acesso em: 10 jul 2014.

SOUZA, D. S. A. **Suscetibilidade de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) à proteína Cry 1F de *Bacillus thuringiensis* Berliner no Brasil**. 2013, 65f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

SOUZA, J. R. **Resistência intrínseca de cultivares de cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e extrínseca ao parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)**. 2011. 83 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de concentração em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2011

VENDRAMIM, J. D.; GUZZO, E. C. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição de insetos. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**/ Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.cap. 25, p.1055-1105.

WAQUIL, J. M.; BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M. Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho-Bt. **Comunicado técnico nº 160**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 10 p., 2008.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. Manejo de pragas na cultura do sorgo. **Circular Técnica nº 27**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 25p. 2003.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

## **CAPÍTULO – 4. Resistência, na categoria antibiose, de cultivares de milho convencional e transgênico à *Diatraea saccharalis***

**Resumo** – A broca da cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), reconhecida há muito tempo como uma praga séria da cana-de-açúcar, tem apresentado a mesma condição na cultura do milho. Todavia, poucas são as informações relacionadas ao uso de fontes de resistências na cultura do milho a esse inseto praga. Neste enfoque, objetivou-se avaliar o efeito de cultivares de milho convencionais e transgênicas na biologia de *D. saccharalis*. Para cada uma das cultivares convencionais: AG 7088, AG 5055, IAC 8390, SHS 7780, 2B 587; e transgênicas: DAS 2B707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO foram utilizadas 60 larvas recém-eclodidas. As lagartas foram observadas diariamente e verificou-se as seguintes variáveis: duração do período larval e viabilidade larval, peso de lagartas aos 16 e 21 dias de idade, duração do período pupal e viabilidade pupal, peso de pupas com 24 horas de idade, longevidade de adultos com alimento, além da fecundidade (número de ovos, número de posturas, número de ovos por postura e viabilidade dos ovos). Colmos das plantas de milho com 55 dias de idade foram analisados quanto ao teor de lignina e fenóis totais para relacionar a existência desses componentes e os possíveis efeitos na biologia de *D. saccharalis*. A cultivar de milho convencional AG 7088 é moderadamente resistente na categoria antibiose por apresentar maior porcentagem de pupas deformadas, menor número de ovos por fêmea e menor viabilidade de ovos. As cultivares convencionais AG 7088 e AG 5055 possuem maiores teores de fenóis totais. As cultivares transgênicas DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO são altamente resistentes na categoria antibiose.

**Palavras-chave** – Resistência de plantas, Broca do colmo, Biologia, Bt Cry, *Bacillus thuringiensis*

## CHAPTER – 4. Resistance, antibiosis category, in corn cultivars of transgenic and conventional maize *Diatraea saccharalis*

**Abstract** – Sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), recognized for long time as a serious pest of cane sugar, has shown the same condition in maize. Therefore information is scarce regarding the use of resistance sources in maize this insect pest. Besides, aimed to evaluate the effect of conventional and transgenic cultivars of maize in the biology of *D. saccharalis*. For each of the conventional cultivars: AG 7088, AG 5055, IAC 8390, SHS 7780, 2B 587; and transgenic: DAS 2B707 HX, DKB 789 YG and DKB 390 VTPRO were used 60 newly hatched larvae. Larvae were observed daily and it has been found the variables: duration and viability of the larval development, weight of larvae at 16 and 21 days of age, duration and viability of the pupal period, pupal weight at 24 hours of age, adults longevity with food, besides fecundity (number of eggs, number of clutches, number of eggs per clutch and egg viability). Stalks of maize plants with 55 days of age were analyzed for lignin content and total phenols relate to the existence of these components and the possible effects on the biology of *D. saccharalis*. The conventional cultivar AG 7088 is moderately resistant on the antibiosis category due to its higher percentage of deformed pupae, fewer eggs per female and lower viability of eggs. Conventional cultivars AG 7088 and AG 5055 have the highest total phenolic content. Transgenic cultivars DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG and DKB 390 VTPRO are highly resistant in antibiosis category.

**Keywords** – Plant resistance, Sugarcane borer, Biology, Bt Cry, *Bacillus thuringiensis*

## 4.1 Introdução

A produção nacional do milho abrange relativamente todas as regiões do Brasil. Os principais estados produtores, Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul corresponderam em 2013 por 80,7% da produção nacional. As maiores regiões produtoras são o Centro Oeste com 42,0% e o Sul, com 34,1% do montante nacional (MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013). Este cereal desempenha papel relevante na economia brasileira, que utiliza o grão na indústria e na alimentação animal, sendo a agroindústria de suínos e aves responsável por consumir mais de 70% da safra nacional (MACHADO et al., 2013).

A importância econômica da produção do milho no país cresce simultaneamente com a preocupação em reduzir as perdas, uma vez que a cultura sofre com o ataque de diversas pragas e doenças, que necessitam de controle eficaz e preciso. Dentre as pragas, a broca da cana, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), reconhecida há muito tempo como uma praga séria da cana-de-açúcar, tem apresentado a mesma condição na cultura do milho, pois as larvas danificam o colmo da planta, debilitando-a ou causando até a sua morte (CRUZ, 2007), além de favorecer indiretamente o ataque de patógenos.

A dificuldade de controlar *D. saccharalis* pelo método convencional, ou seja, o controle químico, ocorre devido ao seu hábito alimentar por abrigar-se dentro dos colmos. Este aspecto tem impulsionado inúmeras pesquisas com métodos alternativos enfatizando o controle biológico, cultural e através de cultivares resistentes (CAMILLO, 2010; GEREMIAS, 2008; SILVA et al., 2012; WAQUIL et al., 2001). A resistência das plantas ao ataque de pragas conforme Wilde (2002) abordou, representa a quantidade relativa de qualidades hereditárias possuídas pela planta que influenciam a quantidade final de danos causados pela praga. Assim como reportaram Vendramim e Guzzo (2009), essa resistência é resultante da relação entre inseto e planta, e a identificação de uma planta ou variedade resistente pode ser feita por meio de parâmetros que levam em consideração tanto o inseto (diferença na população, oviposição, consumo, duração do ciclo biológico,

fecundidade, etc.) como a planta (diferença na sobrevivência, destruição dos diferentes órgãos vegetais, produção, qualidade do produto, etc.).

Daves, Williams e Davis (2007) relacionaram que um método comum para avaliar a resistência da planta seria examinar o impacto dos genótipos sobre a sobrevivência do inseto, crescimento e desenvolvimento. Para explorar essa abordagem as pesquisas podem ser voltadas à transgenia ou a resistência natural da planta.

Na transgenia, Viana e Potenza (2000) estudaram a não preferência e antibiose em genótipos de milho selecionados, com resistência a *Spodoptera frugiperda* (J. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), e encontraram resultados satisfatórios quanto à resistência, assim como em estudo de Waquil, Villela e Foster (2002) que testaram híbridos de milho Bt sobre *S. frugiperda* e concluíram que os Bts, expressando as toxinas Cry 1F e Cry 1Ab, reduziram tanto a sobrevivência como o desenvolvimento das larvas, sendo que o híbrido expressando a toxina Cry 1F mostrou-se praticamente imune ao ataque dessa praga.

Nesse mesmo enfoque, Huang, Leonard e Gable (2006) compararam a suscetibilidade das três maiores brocas do milho: *Ostrinia nubilalis* (Hubner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae), *Diatraea grandiosella* (Dyar, 1911) (Lepidoptera: Crambidae) e *D. saccharalis* criadas em dietas com extrato de folhas de milho com Cry 1Ab e concluíram que *D. saccharalis* apresentou menor suscetibilidade para a proteína Cry 1Ab que *O. nubilalis* e *D. grandiosella*. Pesquisa equivalente foi realizada por Tan et al. (2011) que avaliaram a suscetibilidade de *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae), *O. nubilalis* e *D. saccharalis* às toxinas Cry1 e, obtiveram *D. saccharalis* como mais tolerante à Cry1F e mais suscetível a Cry1Ba dentre as três brocas testadas.

Quanto à antibiose apresentada em cultivares ou genótipos convencionais, corresponde às alterações negativas ocorridas nos diferentes estádios de desenvolvimento do inseto e desencadeadas por características químicas ou deficiências nutricionais inerentes à planta hospedeira. Neste sentido pode-se reportar pesquisa de Waquil, Boregas e Mendes (2008) que realizaram experimentos de campo e laboratório para atestar a viabilidade de hospedeiros alternativos à lagarta-do-cartucho e, relataram diferenças na biologia do inseto de

acordo com o hospedeiro envolvido (sorgo, milho, soja, braquiária, etc.). Vale ressaltar, que Parra, Panizzi e Haddad (2009) propuseram que a escolha do alimento pelo inseto não é determinada somente pelos componentes nutritivos como também pelas características físicas e pelos aleloquímicos das dietas. Logo, estes aspectos podem interferir negativamente nos parâmetros biológicos do inseto causando redução populacional e, conseqüentemente, diminuição dos danos econômicos.

Considerando tais colocações e a importância que *D. saccharalis* tem assumido nos últimos anos, onde sua incidência e danos tornaram-se mais frequentes com prejuízos que variam de 10 a 50 % nos rendimentos (CRUZ, 2007). As pesquisas que abordem o conhecimento de fontes de resistência ou atestem o potencial de materiais comercializados no país contribuem significativamente para a proteção dos cultivos agrícolas. Nesse âmbito, a pesquisa objetivou avaliar o efeito de cultivares de milho convencionais e transgênicas no desenvolvimento de *D. saccharalis*.

## 4.2 Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP - Campus de Jaboticabal, no período de novembro/2012 a fevereiro/2013. O milho foi cultivado em vasos com capacidade de 3 litros contendo terra e esterco na proporção 3: 1 e, 36 dias após o plantio, procedeu-se os testes em laboratório, sob temperatura média de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12h.

As cultivares convencionais utilizadas foram: AG 7088, AG 5055, IAC 8390, SHS 7780, 2B 587; e as transgênicas: DAS 2B707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPRO, selecionadas em testes de não preferência para alimentação.

Para realizar o estudo da antibiose foram utilizadas 60 lagartas recém-eclodidas por tratamento, as quais foram individualizadas em copos plásticos com capacidade para 145 mL, forrados, ao fundo com discos de papel filtro umedecidos

com água destilada (Figura 1). A individualização foi realizada com auxílio de pincel de cerdas macias e devidamente esterilizado. Antes de ser oferecido às lagartas, o material vegetal foi desinfetado em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 % por 3 minutos, lavados em água corrente e colocados para secar em papel toalha (Figura 2).



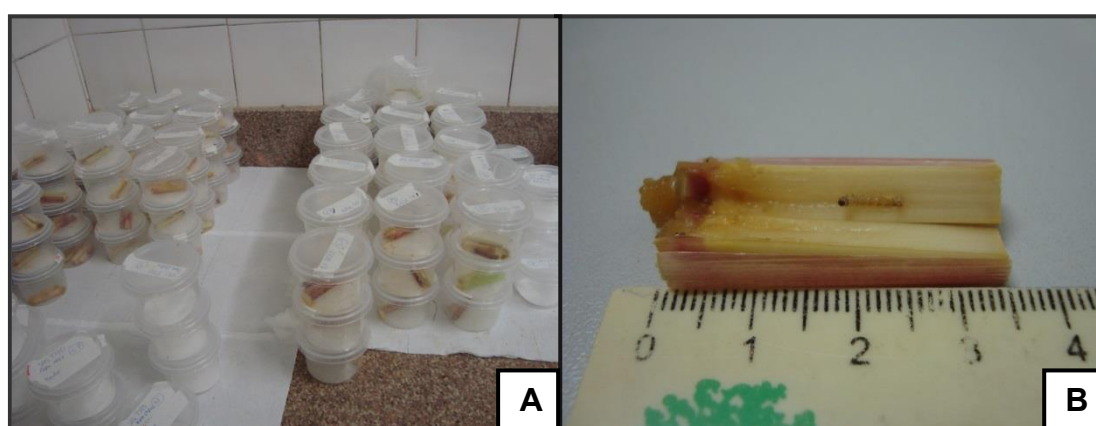
**Figura 1.** Lagartas de *Diatraea saccharalis* individualizadas em copos plásticos utilizadas no experimento de antibiose. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.



**Figura 2.** Folhas de cultivares de milho convencionais e transgênicas após assepsia e dispostas para secagem em papel toalha. Jaboticabal/SP.2012/2013.

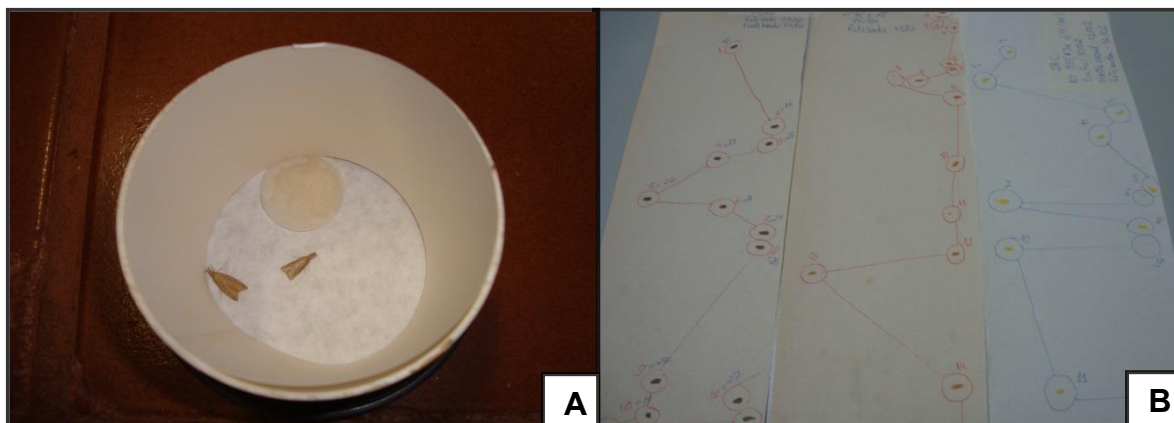


As lagartas foram observadas diariamente e o material substituído a cada dois dias ou conforme necessidade. Nos quatro dias iniciais as larvas foram alimentadas com seções foliares devido ao comportamento da lagarta de inicialmente raspar a superfície da folha, caminhando em direção à bainha (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004). Após esse período, a praga foi mantida em pedaços de colmo retirados do terço médio da planta (Figura 3A), submetidos à corte longitudinal para facilitar a troca de alimento, durante todo o período larval (Figura 3B).



**Figura 3.** Colmos de milho para alimentação de larvas de *Diatraea saccharalis* (A) e corte longitudinal para facilitar a troca de alimento (B). Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

As variáveis observadas foram: duração do período larval e viabilidade da fase larval, peso de lagartas aos 16 e 21 dias de idade, duração do período pupal e viabilidade da fase pupal, peso de pupas sexadas e com 24 horas de idade, longevidade de adultos com alimento. A fecundidade foi avaliada individualizando seis casais de cada cultivar e avaliando o número de ovos, número de posturas e número de ovos por postura e viabilidade dos ovos. Os casais foram acondicionados em gaiolas de PVC com 10 cm de diâmetro e 11 cm de altura (Figura 4A), envoltas com papel sulfite, para a oviposição, e cobertas em uma das extremidades com tecido “voile” para evitar fugas. Chumaços de algodão hidrófilo foram embebidos em solução de mel a 10% para a alimentação dos indivíduos. As posturas foram retiradas diariamente e contou-se os ovos e as posturas, com posterior cálculo do número de ovos por postura (Figura 4B).



**Figura 4.** Casal de adultos de *Diatraea saccharalis* (A) e folhas de papel sulfite retiradas de gaiolas contendo posturas em diferentes estágios de coloração (B). Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; Fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/ 2013.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade e quando não atenderam à curva de normalidade, foram transformados em  $\sqrt{x}$ ,  $1/\sqrt{x}$  ou  $\log x$ . Em seguida, realizou-se análise de variância e teste de comparação de médias pelo Teste de Tukey, ambos realizados pelo programa ASSISTAT versão 7.6 beta (SILVA, 2014).

Paralelamente ao experimento para acompanhamento do ciclo biológico de *D. saccharalis* em cultivares de milho, colmos foram retirados de plantas com idade de 55 dias de plantio, individualizados por cultivar em sacos plásticos e levados ao laboratório. No Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, os mesmos foram lavados em água corrente, submetidos por 3 minutos em solução com detergente a 0,05% e em seguida foram novamente lavados em água corrente (quatro repetições). Posteriormente foram dispostos em papel toalha para secagem e armazenados em sacos de papel para secagem em estufa à  $60^\circ\text{C}$  por 48h. Decorrido esse período, procedeu-se com moagem em moinhos de faca até redução em pó vegetal à baixa granulometria (NOGUEIRA et al., 1998) (Figura 5). As amostras devidamente identificadas foram enviadas ao Laboratório de Produtos Vegetais, localizado no Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, MG. A obtenção dos extratos foi realizada segundo Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997) e o conteúdo de fenóis e lignina foi determinado pela técnica de Waterhouse (2001).



**Figura 5.** Amostras de colmos de milho convencionais e transgênicas moídas para análise de fenóis totais e lignina. Jaboticabal/SP. 2013.

### 4.3 Resultados e Discussão

O desenvolvimento biológico de *D. saccharalis* mostrou alguns parâmetros amostrados que diferiram entre si. Na Tabela 1 foram abordados quesitos relativos à fase larval, onde as cultivares AG 7088, SHS 7780 e AG 5055 mantiveram as maiores médias de peso larval tanto aos 16 quanto aos 21 dias de idade, contrariamente ao apresentado pelas cultivares IAC 8390 e 2B 587 que mantiveram o menor peso larval nos períodos avaliados. Em geral, as lagartas consomem relativamente grande quantidade de alimento, possuem capacidade intestinal grande e rapidamente digerem o alimento. Entretanto, por serem pouco seletivas, muitas vezes, acabam por ingerir partes das plantas pouco nutritivas como nervuras ou tecidos, metabolicamente pobres (PANIZZI; PARRA, 2009). Assim, o ganho de peso das larvas pode representar uma melhor adequação nutricional da dieta alimentar.

**Tabela 1.** Médias dos pesos (mg) de lagartas de *Diatraea saccharalis* com 16 dias e 21 dias de idade, alimentadas com cultivares de milho e duração (dias) do período larval. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Fase Larval <sup>(1)</sup>		
	Peso com 16 dias (mg) <sup>(3)</sup>	Peso com 21 dias (mg) <sup>(3)</sup>	Duração (dias) <sup>(4)</sup>
AG 5055	16,40 ab	40,90 ab	37,17 a
IAC 8390	11,50 c	34,10 b	38,34 a
SHS 7780	15,20 ab	40,70 ab	39,08 a
2B 587	14,80 bc	38,00 b	37,31 a
AG 7088	19,70 a	50,80 a	39,00 a
DAS 2B707 HX -T	_(2)	_(2)	_(2)
DKB 789 YG -T	_(2)	_(2)	_(2)
DKB 390 VTPRO -T	_(2)	_(2)	_(2)
F (TRATAMENTO)	6,77 **	4,41 **	0,70 <sup>ns</sup>
CV (%)	29,31	55,06	5,29

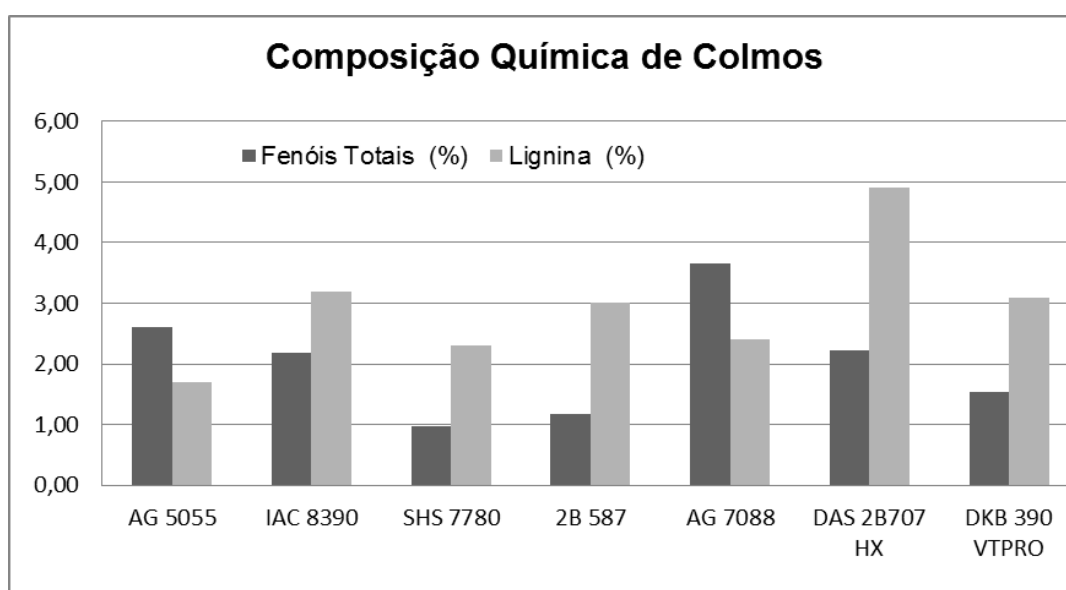
<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>(2)</sup> Todas as lagartas alimentadas com essas cultivares morreram (variância nula). <sup>(3)</sup> Para análise os dados foram transformados em  $\sqrt{x}$ . <sup>(4)</sup> Para análise os dados foram transformados em  $\log x$ .

A duração da fase larval de *D. saccharalis* não foi afetada pelas cultivares, pois não houve diferença entre os tratamentos. Quando há um prolongamento de instar do inseto, isto ocorre normalmente para compensar as deficiências nutricionais ou toxicidade dos substratos alimentares. As cultivares transgênicas ocasionaram a morte das larvas num período entre três a quatro dias após a implantação do experimento, impossibilitando o acompanhamento do ciclo biológico (Tabela 1). Fato similar aos estudos de Huang, Leonard e Gable (2006) que obtiveram mortalidade de 94% para larvas de *D. saccharalis*, quando expostas ao milho Bt por 4 dias. Mendes et al. (2011) também reportaram os efeitos negativos do milho Bt, mas em *S. frugiperda*, onde a biomassa média das larvas foi significativamente reduzida em comparação à do milho não Bt e, as larvas que não morreram, ao se alimentar do milho Bt, tiveram o seu desenvolvimento comprometido.

Os mecanismos da antibiose geralmente envolvem produtos químicos tóxicos ou deficiências nutricionais (DUCK; ÉVOLA, 1997). Quando se relaciona os dados da fase larval com a composição química de fenóis totais e lignina contidos nos colmos (Figura 6), pode-se observar que o menor peso das larvas nas cultivares IAC

8390 e 2B 587 ocorre simultaneamente à maior concentração de lignina entre os materiais convencionais, possuindo estes valores inferiores apenas às cultivares transgênicas DKB 390 VTPRO e DAS 2B707. A lignina é encontrada nas paredes celulares de vários tipos de tecidos de sustentação e vascular (traqueídes e elementos de vaso); sua resistência física coíbe seu consumo pelos herbívoros e sua estabilidade química torna-a relativamente indigerível por esses animais (GERSHENZON; ENGELBERTH, 2013). Logo, maiores concentrações deste componente interfere principalmente na fase larval, pois oferece uma barreira mecânica que dificulta o hábito alimentar das lagartas. A dureza das estruturas lignificadas pode atuar como deterrente físico para os insetos e, à semelhança da sílica, provoca o desgaste das mandíbulas, impedindo ou dificultando a mastigação e a ingestão dos tecidos dessas plantas (VENDRAMIM; GUZZO, 2009).

Outro aspecto relevante ocorreu nas cultivares AG 7088, SHS 7780 e AG 5055 que apresentaram os maiores pesos larvais e menores concentrações de lignina, que repercutiram positivamente na alimentação das larvas de *D. saccharalis*. Em síntese, vários dos componentes da parede celular mostram um papel determinante na resistência de milho a pragas e doenças. No entanto, os mecanismos de defesa são muito complexos e variam entre as mesmas espécies de plantas (SANTIAGO; BARROS-RIOS; MALVAR, 2013).



**Figura 6:** Porcentagem de fenóis totais e lignina em massa seca de cultivares de milho convencionais e transgênicas. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Para a fase pupal de *D. saccharalis* (Tabela 2) foi verificada diferença significativa entre os tratamentos para o peso de pupa macho. As cultivares AG 5055 e IAC 8390 propiciaram maior média de peso pupal para machos, ainda que similares aos apresentados pelas cultivares SHS 7780 e 2B 587. O menor peso de pupa macho foi apresentado para lagartas alimentadas na cultivar AG 7088, provavelmente pela presença de substâncias tóxicas, pois esse material apresentou o maior índice de fenóis totais dentre as cultivares testadas (Figura 6). As classes químicas mais freqüentes encontrados com efeitos anti-alimentares e/ ou redução de crescimento são os terpenóides, alcalóides, flavonóides, glucósidos cianogênicos e ácidos hidroxâmicos (DUCK; ÉVOLA, 1997).

As pupas fêmeas mantiveram média de peso semelhante em ambos os tratamentos e não diferiram entre si. No entanto, para duração do período pupal foi observada diferença estatística entre as cultivares com o material 2B 587 apresentando um prolongamento na duração dessa fase (8,80 dias) quando comparado com AG 7088. A cultivar AG 7088 apresentou a menor duração pupal (8,15 dias), apesar destes períodos serem inferiores aos resultados obtidos por Bortoli et al. (2003) para a broca do colmo, em condições de laboratório e alimentada com sorgo, variando de 6 a 9 dias e, por Freitas et al. (2007) para *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) alimentada em dieta artificial com duração média da fase pupal de 12,75 dias.

Outro aspecto observado na fase pupal da broca foi a porcentagem de pupas deformadas (Figura 7) conforme Parra (2009) relacionou como causadas pela interação de propriedades físico-químicas e deficiências nutricionais. Nos tratamentos foram verificadas como frequentes: atrofia e deformações de antenas, deslocamento de peças bucais, deformação de urômeros com descaracterização da terminália, enegrecimento e retenção de caracteres morfológicos larvais.

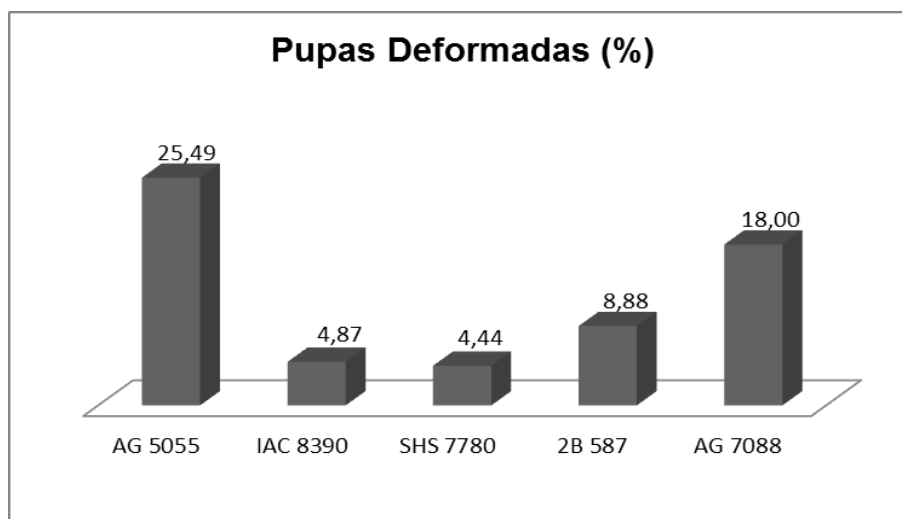
As cultivares que apresentaram os valores mais elevados de deformações à *D. saccharalis* morfológicas foram AG 5055 (25,49%) e AG 7088 (18%) concomitantemente com os mais altos valores de fenóis totais (Figura 6). Deve-se ressaltar dois aspectos desse dado: a deformação de pupas pode representar uma dieta desfavorável, que compromete a formação de adultos normais e o teor de fenóis totais existente nesses materiais, que incluem fenóis simples e outros

glicosilados, ácidos fenol-carboxílicos, derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, a-pirones (cumarinas e isocumarinas), ligninas, flavonóides (flavononas, antocianinas e catequinas) e quinonas (STANGARLIN et al., 2011). Algumas destas substâncias são relatadas muitas vezes como tóxicas ou prejudiciais à biologia dos insetos.

**Tabela 2.** Médias dos pesos (mg) de pupas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com cultivares de milho e duração do período pupal. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Fase Pupal <sup>1</sup>		
	Peso Pupa Macho (mg)	Peso Pupa Fêmea (mg)	Duração (dias)
AG 5055	77,30 a	96,80 a	8,70 ab
IAC 8390	77,10 a	100,30 a	8,56 ab
SHS 7780	72,10 ab	99,00 a	8,71 ab
2B 587	72,10 ab	92,90 a	8,80 a
AG 7088	61,70 b	84,60 a	8,15 b
DAS 2B707 HX -T	_(2)	_(2)	_(2)
DKB 789 YG -T	_(2)	_(2)	_(2)
DKB 390 VTPRO -T	_(2)	_(2)	_(2)
F (TRATAMENTO)	4,51 **	2,56 *	2,51*
CV (%)	20,84	19,34	11,8

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>(2)</sup> Todas as lagartas alimentadas com essas cultivares morreram (variância nula). T = cultivar transgênica.



**Figura 7.** Porcentagem de pupas deformadas de *Diatraea saccharalis* oriundas de alimentação em cultivares de milho convencionais. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Quanto às possíveis interferências das cultivares na fase reprodutiva de *D. saccharalis* (Tabela 3) foram verificados que os materiais AG 5055 com média de 339,67 ovos, IAC 8390 com média de 312 ovos e 2B 587 com média de 250,83 não diferiram entre si, ou seja, demonstraram serem as mais favoráveis ao desempenho reprodutivo da broca, pois os valores foram próximos aos reportados por De Conti (2012) trabalhando com o mesmo lepidóptero, em temperatura de  $25^\circ\text{C}$  e em dieta artificial obteve média de 304,56 ovos.

A cultivar SHS 7780 representou a cultivar com a maior média de ovos (375,67) e a cultivar AG 7088 demonstrou a menor média de ovos. Nos parâmetros de número de posturas a média oscilou entre 19 a 27,5 e número de ovos por postura ficou entre 8,23 e 17,24; não demonstrando diferença significativa, pois os materiais proporcionaram resultados similares (Tabela 3). Contudo, ao analisar a viabilidade destes ovos, houve distinção de acordo com as cultivares testadas, permitindo ao material SHS 7780 viabilidade de quase 90% (88,39%) e a cultivar AG 7088, além de apresentar menor média de ovos dos materiais, proporcionou a menor viabilidade entre as cultivares próximo a 55% (54,66%), demonstrando que tal cultivar afetou negativamente a fecundidade das fêmeas adultas, destacando-se que estas foram decorrentes de pupas com pesos inferiores, que Parra (2009) indicou



existir correlação entre peso de pupa e capacidade de postura. Para as demais cultivares a viabilidade foi intermediária.

**Tabela 3.** Números médios de ovos, postura e de ovos por postura e viabilidade de ovos (%) de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Fecundidade <sup>1</sup>			
	Número de Ovos por Fêmea	Número de Posturas	Número de Ovos por Postura	Viabilidade dos Ovos (%)
AG 5055	339,67 ab	25,33 a	17,25 a	72,39 ab
IAC 8390	312,00 ab	26,00 a	13,16 a	75,96 ab
SHS 7780	375,67 a	25,66 a	16,60 a	88,39 a
2B 587	250,83 ab	19,00 a	12,68 a	82,36 a
AG 7088	164,83 b	27,50 a	8,23 a	54,66 b
DAS 2B707 HX -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
DKB 789 YG -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
DKB 390 VTPRO -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
F (TRATAMENTO)	3,08 *	0,40 <sup>ns</sup>	1,44 <sup>ns</sup>	3,97 *
CV (%)	40,09	51,31	54,07	21,04

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>(2)</sup> Todas as lagartas alimentadas com essas cultivares morreram (variância nula). T = cultivar transgênica.

Não foram constatadas diferenças significativas entre os parâmetros de longevidade de machos e fêmeas e duração do ciclo larva-adulto (Tabela 4).

Na perspectiva da viabilidade larval, pupal e total (Tabela 5), os resultados demonstraram que a menor viabilidade larval ocorreu na cultivar IAC 8390 (71,92%) que pode ser explicada pelo alto teor de lignina nesse substrato alimentar, pois as ligninas possuem capacidade de ligação à celulose e às proteínas, o que reduz a digestibilidade dessas substâncias (GERSHENZON; ENGELBERTH, 2013) e provavelmente foram responsáveis por interferir nesse parâmetro da praga. Quanto à viabilidade pupal, a cultivar AG 5055 representou a menor porcentagem (72,55%), contudo foi responsável pela segunda maior concentração de fenóis totais (Figura 6) e maior percentual de deformação pupal. Tais considerações permitem sugerir que

essa cultivar interferiu negativamente neste aspecto da biologia, pois os compostos fenólicos estão envolvidos em mecanismos de resistência do tipo antibiose (GUIMARÃES et al., 2008).

**Tabela 4.** Médias da longevidade (dias) de adultos de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho e duração (dias) do ciclo de larva-adulto. Temperatura: 25 ± 1°C; UR: 60 ± 10%; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP. 2012/2013.

Cultivares	Longevidade (Dias) <sup>(1)</sup>		Duração Larva a Adulto (Dias) <sup>(1,3)</sup>
	Machos	Fêmeas	
AG 5055	3,91 a	3,64 a	50,72 a
IAC 8390	3,64 a	3,77 a	51,05 a
SHS 7780	3,25 a	3,91 a	51,67 a
2B 587	3,16 a	3,07 a	49,77 a
AG 7088	3,06 a	3,65 a	49,21 a
DAS 2B707 HX -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
DKB 789 YG -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
DKB 390 VTPRO -T	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>	- <sup>(2)</sup>
F (TRATAMENTO)	3,07 *	1,00 <sup>ns</sup>	0,75 <sup>ns</sup>
CV (%)	29,68	34,49	7,34

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. <sup>(2)</sup> Todas as lagartas alimentadas com essas cultivares morreram (variância nula). <sup>(3)</sup> Para análise os dados foram transformados em  $1/\sqrt{x}$ . T = cultivar transgênica.

A viabilidade total recebeu efeitos negativos quando as larvas de *D. saccharalis* foram alimentadas nas cultivares AG 5055 (61,67%) e AG 7088 (61,67%), que foram apresentados cumulativamente, principalmente nesta última, pois o peso larval foi superior, indicando que as larvas necessitaram ingerir mais alimento para compensar a inadequação da dieta e, ainda assim, apresentaram menor peso pupal para machos e fêmeas. Além das consequências diretas na fecundidade de adultos, todas estas interferências conjuntamente com o maior teor de fenóis totais diagnosticado entre as cultivares, explicam a impropriedade nutricional desse material, ou conforme Boiça Junior et al. (2013) reportaram, a antibiose representa influência negativa pela presença de atributos químicos e/ou físicos que dificultam o crescimento e desenvolvimento do inseto, provocando

alterações como prolongamento do ciclo biológico, deformação e mortalidade nas diferentes fases do desenvolvimento, menor peso e tamanho dos indivíduos, dentre outros.

**Tabela 5.** Viabilidade larval, pupal e de adultos de *Diatraea saccharalis*, cujas lagartas foram alimentadas com cultivares de milho. Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; UR:  $60 \pm 10\%$ ; fotoperíodo: 12h. Jaboticabal/SP.2012/2013.

Cultivares	Viabilidade Larval (%)	Viabilidade Pupal (%)	Viabilidade Total (%)
AG 5055	85,00	72,55	61,67
IAC 8390	71,92	92,68	66,67
SHS 7780	75,00	95,55	71,67
2B 587	75,00	88,89	66,67
AG 7088	83,33	74,00	61,67
DAS 2B707 HX -T	- (1)	- (1)	- (1)
DKB 789 YG -T	- (1)	- (1)	- (1)
DKB 390 VTPRO -T	- (1)	- (1)	- (1)

(1) Todas as lagartas alimentadas com essas cultivares morreram (variância nula). T= cultivar transgênica.

#### **4.4 Conclusões**

- A cultivar de milho convencional AG 7088 é moderadamente resistente na categoria antibiose por apresentar pupas deformadas, menor número de ovos por fêmea e menor viabilidade de ovos;
- As cultivares convencionais AG 7088 e AG 5055 apresentam maiores teores de fenóis totais;
- As cultivares transgênicas DAS 2B 707 HX, DKB 789 YG e DKB 390 VTPROS são altamente resistentes na categoria antibiose.

## Referências

BOIÇA JUNIOR, A. L., SOUZA, B. H. S., LOPES, G.S., COSTA, E. N., MORAES, R. F. O., EDUARDO, W. I. Atualidades em Resistência de Plantas a Insetos In: Busoli, A. C. et al. **Tópicos em Entomologia Agrícola - VI**. Jaboticabal : FUNEP, 2013, v.1. cap. 17, p.327.

BORTOLI, S. A.; ALBERGARIA, N. M. M. S.; DÓRIA, H. O. S.;; BOTTI, M. V.; COUTINHO, E. L. M.; BERLINGIERI, P.A.; MALHEIROS, E.B. Aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em *Sorghum bicolor* (L.) Moench sob diferentes níveis de potássio, em laboratório. **Boletín Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v.29, n.4, p. 575-580, 2003.

CAMILLO, M. F. **Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em duas idades, ao ataque de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) na presença de parasitismo, em área de expansão no estado do Mato Grosso do Sul**. 2010, 30p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

CRUZ, I. A Broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*, em milho, no Brasil. **Documentos: Embrapa Milho e Sorgo**, nº 90, Sete Lagoas, 12p. 2007.

DAVES, C. A.; WILLIAMS, W. P.; DAVIS, F. M. Impact of plant resistance on southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) biology and plant damage. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 100, n. 3, p. 969-975, 2007.

DE CONTI, B. F. **Exigências térmicas e monitoramento de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), como suporte ao seu controle biológico**. 2012, 120f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

DUCK, N.; EVOLA, S. Use of transgenes to increase host plant resistance to insects: opportunities and challenges. In: CAROZZI, N. B.; KOZIEL, M. G. (Ed.) **Advances in Insect Control: the role of transgenic plants**, Taylor & Francis Ltd – London, 1997, cap. 1, p. 1-20.

FREITAS, M. R. T.; SILVA, E. L.; MENDONÇA, A. L.; SILVA, C. E.; FONSECA, A. P. P.; MENDONÇA, A. L.; SANTOS, J. S.; NASCIMENTO, R. R.; SANT'ANA, A. E. G. The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.90, n. 2, p. 309-313, 2007.

GEREMIAS, L. D. **Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em milho.** 2008, 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de concentração em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

GERSHENZON, J.; ENGELBERTH, J. E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: **Fisiologia Vegetal**. TAIZ, I.; ZEIGER, E. Artmed: Porto Alegre, 5ª ed., 2013, cap. 13, p.369-400.

GUIMARÃES, E. R.; MUTTON, M. A.; FERRO, M. I. T.; SILVA, J. A.; MUTTON, M. J. R. Níveis constitutivos de compostos fenólicos podem estar relacionados à resistência da cana-de-açúcar à cigarrinha-das-raízes. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v. 1, n.3, p. 357-365, 2008.

HUANG, F.; LEONARD, B. R.; GABLE, R. H. Comparative susceptibility of european corn borer, southwestern corn borer, and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab protein in a commercial *Bacillus thuringiensis* corn hybrid. **Journal of Economic Entomology**, Maryland, v. 99, n.1, p.194-202, 2006.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SUARA-CALIXTO, F. Effect of drying of temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 45, p.1390-1393, 1997.

MACHADO, J. R. A.; GUIMARÃES, L. J.M.; GUIMARÃES, P. E. O.; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P.; SILVA, A. R.; MEIRELLES, W. F. Comportamento de variedades de milho em três épocas de semeadura no Norte do Rio Grande do Sul. **Comunicado Técnico nº 206**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 9 p., 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023**. Brasília: Mapa/ACS, 96 p. 2013.

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.

NOGUEIRA, A. R.; MACHADO, P. L. O. A.; CARMO, C. A. F. S.; FERREIRA, J. R. **Manual de laboratório: solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa: CPPSE, 1998, 72P.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**/ Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap.1, p. 21-35.

PARRA, J. R. P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**/ Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap.3, p.91-174.

PARRA, J. R. P.; PANIZZI, A. R.; HADDAD, M. L. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**/ Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 2, p.37-90.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 108p. 2004.

SANTIAGO, R.; BARROS-RIOS, J.; MALVAR, R. A. Impact of cell wall composition on maize resistance to pests and diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 14, n.4, p.6960-6980; 2013.

SILVA, C. C. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; VALENTE, E. C. N. Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n.1, p. 23-27, 2012.

SILVA, F. S. Assistat .- Assistência Estatística, versão 7.7. Disponível em: <<http://www.assistat.com>> Acesso em: 10 jul 2014.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Cascavel, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.

TAN, S. Y.; CAYABYAB, B. F.; ALCANTARA, E. P.; IBRAHIM, Y. B.; HUANG, F.; BLANKENSHIP, E. E.; SIEGFRIED, B. D. Comparative susceptibility of *Ostrinia furnacalis*, *Ostrinia nubilalis*, and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 1184–1189; 2011.

VENDRAMIM, J. D.; GUZZO, E. C. Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição de insetos. In: **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**/ Editores técnicos, Antonio R. Panizzi, José R. P. Parra. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 25, p.1055-1105.

VIANA, P. A.; POTENZA, M. R. Avaliação de antibiose e não-preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n.1, p.27-33, 2000.

WAQUIL, J. M.; BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M. Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho-Bt. **Comunicado técnico nº 160**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 10 p., 2008.

WAQUIL, J. M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistance of commercial hybrids and lines of Sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench., to *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p.661-668, 2001.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. et al. Current protocols in food analytical chemistry . New York: Wiley, 2001, p.l 1.1.1.-l1.1.8.



WILDE, G. Arthropod host plant resistant crops. In: **Encyclopedia of Pest Management**, cap.15, p.33-35, 2002.