

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

**EFICÁCIA DA SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA
MON 87701 × MON 89788 COM A EXPRESSÃO DA
PROTEÍNA Cry1Ac NO CONTROLE DE *Anticarsia
gemmatalis* (Hübner) e *Pseudoplusia includens* (Walker)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).**

Edson Corbo
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2011

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

**EFICÁCIA DA SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA
MON 87701 × MON 89788 COM A EXPRESSÃO DA
PROTEÍNA Cry1Ac NO CONTROLE DE *Anticarsia
gemmatalis* (Hübner) e *Pseudoplusia includens* (Walker)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).**

Edson Corbo

Orientador: Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Agronomia
(Entomologia Agrícola).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Junho de 2011

Corbo, Edson
C792e Eficácia da soja geneticamente modificada MON 87701 × MON 89788 com a expressão da proteína Cry1Ac no controle de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) e *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) / Edson Corbo.
-- Jaboticabal, 2011.
xi, 37f.: il. ;28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2011.

Orientador: Odair Aparecido Fernandes

Banca examinadora: Arlindo Leal Boiça Junior, Alexandre de Sene Pinto

Bibliografia:

1. Soja Transgênica. 2. Cry1Ac 3. Lagarta-da-soja. I. Título II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

CDU:595.78:633.34

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

Colocar aqui o certificado de Aprovação (Fornecido pela Seção de Pós-Graduação)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EDSON CORBO – Nasceu em 08 de janeiro de 1977, na cidade de Sertãozinho, Estado de São Paulo. Formou-se Técnico Agrícola pelo colégio “José Bonifácio” - UNESP, Campus de Jaboticabal em dezembro de 1994. Atuou como Auxiliar de Pesquisa nas empresas Dow AgroSciences e Monsanto do Brasil no período de abril/1995 a agosto/1998 e setembro/1998 a fevereiro/2000 respectivamente. Em julho/2004 formou-se em Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, Campus de Araras, Estado de São Paulo. Durante o período da faculdade foi bolsista do CNPq (2001 a 2003), sob a orientação do Prof. Dr. José Carlos Rolim. No período de agosto/2002 a junho/2004 foi estagiário na Dow AgroSciences sob a orientação do Pesquisador Dr. Antonio César dos Santos. Em julho de 2004 começou a trabalhar no departamento de pesquisa e desenvolvimento da Monsanto do Brasil, passando pelas estações de pesquisa da empresa em Sorriso, estado do Mato Grosso (julho/2004 – Junho/2008), Santa Cruz das Palmeiras, estado de São Paulo (agosto/2008 – setembro/2009) e desde outubro/2009 trabalha no departamento de pesquisa na estação experimental de Uberlândia, estado de Minas Gerais.

A Deus pela oportunidade da vida.

Ao meu pai, José Antonio Corbo e à minha mãe, Maria Fátima Domingues Corbo, por tudo que sempre fizeram por mim. Muito obrigado pela educação, amor, carinho, dedicação, incentivo, ensinamentos e compreensão pela ausência.

Ao meu amigo, companheiro e irmão Rogério Corbo pelo amor e união.

Dedico

À minha esposa Ariane e filha Larissa pelo amor, compreensão da ausência e incentivo ao mestrado. Razão pela motivação em tudo que faço na vida. Sou muito grato a Deus por vocês fazerem parte da minha vida.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Odair A. Fernandes pela paciência, oportunidade, amizade, dedicação e ensinamentos que nunca serão esquecidos.

Ao Time Biotech Soy, MSc Leandro Silva, MSc Rubens B. Silva, MSc Marcelo Batistela e ao Eng. Agr. Gustavo Hidalgo pela amizade, ajuda no desenvolvimento da metodologia, auxílio na condução dos experimentos e avaliações.

À Dra. Lucimara Blumer, estatística da Monsanto pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves pelo empréstimo do equipamento medição de área foliar, que foi de suma importância para parte das avaliações do trabalho.

Aos Gerentes Eng. Agr. Marcelo Barboza e Dr. Paulo C. Canci pelo apoio e incentivo do mestrado.

Ao amigo Dr. Marcelo Nishikawa pelo apoio e incentivo no início do mestrado.

À Monsanto do Brasil pela oportunidade no desenvolvimento do trabalho, apoio financeiro e liberação para cursar as disciplinas.

À empresa Gravena Pesquisa Consultoria & Treinamento pelo grande apoio na criação das pupas das espécies estudadas.

Aos amigos José Alfredo Martuci, Reginaldo Pinto e Marcos Palhares, ambos pesquisadores da Monsanto pelo apoio na condução dos ensaios na estação experimental de Santa Cruz das Palmeiras, SP.

A todos os amigos pós graduando da Entomologia em especial ao Doutorando Alexandre Menezes, pela amizade, sugestões e auxílio nas correções.

Ao Departamento de Regulamentação de Produtos da Monsanto pelo apoio e orientação das normas de Biossegurança.

Ao Dr. Odnei D. Fernandes pela amizade e incentivo contínuo do Mestrado.

Aos Professores Dr. Alexandre de Sene Pinto e ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Junior pelas sugestões e discussões durante a minha defesa.

Dr. Arlindo Leal Boiça Junior e Dr. Antonio Carlos Busoli, pelas sugestões apresentadas para aprimoramento do texto.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, FCAV/UNESP, pelos ensinamentos.

Ao amigo John Allis pela ajuda nas atividades do meu trabalho na Monsanto durante os dias em que estava na Universidade e também pela revisão do Abstract.

Aos funcionários da Biblioteca da FCAV/UNESP, especialmente à Tieko Takamiya Sugahara pela revisão das referências.

SÚMARIO

	Página
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xi
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Distribuição geográfica e hospedeiros de <i>A. gemmatalis</i>	3
2.2 Características morfológicas e biológicas de <i>A. gemmatalis</i>	3
2.3 Distribuição geográfica e hospedeiros de <i>P. includens</i>	5
2.4 Aspectos morfológicos e biológicos de <i>Pseudoplusia includens</i>	5
2.5. Consumo foliar de <i>A. gemmatalis</i> e <i>P. includens</i>	6
2.6 Soja modificada geneticamente	7
III. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1 Localização dos experimentos.....	9
3.1.1 Casa-de-vegetação	9
3.1.2 Gaiolas	10
3.2 Genótipos	10
3.3 Criação dos insetos	11
3.4 Experimentos preliminares	12
3.5 Experimento 1 – <i>A. gemmatalis</i>	12
3.5.1 Infestação das plantas	12
3.5.2 Avaliações.....	14
3.6 Experimento 2 – <i>P. includens</i>	15
3.6.1 Infestação das plantas	15
3.6.2 Avaliações.....	16
3.6.3 Análise Estatística	16
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Experimento 1 - <i>A. gemmatalis</i>	17
4.2 Experimento 2 - <i>P. includens</i>	23
V. CONCLUSÕES.....	29
VI. REFERÊNCIAS	30

Eficácia da soja geneticamente modificada MON 87701 × MON 89788 com a expressão da proteína Cry1Ac no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) e *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae).

RESUMO – A soja transgênica MON 87701 × MON 89788 com Cry1Ac foi comparada com a soja isogênica não transgênica (M 8329) e soja RR (M 8360 RR) resistente ao herbicida glifosato no controle destes insetos, sob condições de casa-de-vegetação. Adotou-se o delineamento de blocos casualizados em parcelas subdividas com 4 repetições, sendo que os níveis de infestação corresponderam aos tratamentos primários, enquanto os genótipos de soja corresponderam aos tratamentos secundários. A soja foi cultivada em vasos plásticos sob gaiola telada. Os tratamentos primários para o ensaio com *A. gemmatalis* foram a) sem infestação; b) baixa infestação com liberação de 64,75+66,75 (fêmea+macho) adultos/parcela e c) alta infestação com liberação de 317,25+302,5 (fêmea+macho) adultos/parcela; enquanto para *P. includens* foram a) baixa infestação com liberação de 55,25+58,55 (fêmea+macho) adultos/parcela e b) alta infestação com liberação de 213,25+196,5 (fêmea+macho) adultos/parcela. Os tratamentos secundários foram soja MON 87701 × MON 89788; soja isogênica não transgênica; soja RR. Os resultados indicaram que a soja MON 87701 × MON 89788 foi altamente eficiente no controle da lagarta-da-soja e da falsa-medideira. A soja isogênica não transgênica (M 8329) e soja RR (M 8360 RR) não tiveram qualquer efeito nas populações de ambas as lagartas. Os adultos não discriminaram a soja geneticamente modificada e portanto não tiveram preferência para oviposição

Palavras-chave: biotecnologia, falsa-medideira, lagarta-da-soja, proteína Cry1Ac, soja transgênica

Efficacy of the genetically modified soybean MON 87701 × MON 89788 expressing the Cry1Ac protein to control velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) and soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidopteran: Noctuidae).

SUMMARY - The transgenic soybean MON 87701 × MON 89788 with Cry1Ac was compared to the isogenic non-transgenic soybeans (M 8329) and RR soybean (M 8360 RR) resistant to glyphosate in the control of these pests, under greenhouse conditions. Split plot design with four randomized blocks (replications) and infestation levels corresponded to the primary treatment, together with the soybean genotypes corresponded to the secondary treatments was adopted in this study. Soybeans were planted in plastic pots under screened cage. For *A. gemmatalis*, the primary treatments were a) non-infested plants b) low infestation in which 64.75 +66.75 (female + male) adult/plot were released c) high infestation in which 317.25 +302.5 (female + male) adult/plot were released; whereas, for *P. includens* the treatments were a) low infestation with 55.25 +58.55 (female + male) adult/plot and b) high infestation with 213.25 +196.5 (female + male) adult/plot released. The secondary treatments were soybean MON 87701 × MON 89788; isogenic non-transgenic soybean and RR soybean. The results indicated that soybean MON 87701 × MON 89788 was highly effective in controlling both velvetbean caterpillar and soybean looper. Adults of both insects were not able to discriminate the genetically modified soybean, therefore they did not show oviposition preference.

Keywords: biotechnology, velvetbean caterpillar, soybean looper, Cry1Ac, transgenic soybean

I. INTRODUÇÃO

A soja *Glycine max* (L.) Merrill constitui-se numa espécie de grande interesse socioeconômico em função dos teores elevados de proteína, da produtividade de grãos e da possibilidade de adaptação a ambientes diversos (Xu et al., 1989). Essa cultura é a mais plantada e de maior importância para o Brasil, ocupando 24 milhões de hectares na safra 2010/2011, 566 mil hectares superior a área da safra anterior (CONAB, 2011). A soja é um dos mais importantes produtos de exportação do Brasil. O maior produtor mundial de soja é o Estados Unidos da América, com 87.067.000 t, seguindo-se o Brasil com 60.000.000 t e a Argentina com 51.000.000 t na safra 2009/2010. O maior estado produtor brasileiro é o Mato Grosso com 18.766.868 t, vindo a seguir Paraná com 14.008.017 t, Rio Grande do Sul com 9.246.415 t e Goiás com 7.225.250 t (AGRIANUAL, 2011).

Dentre as principais pragas que ocorrem na cultura da soja, os lepidópteros lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), e lagarta falsa-medideira, *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), e os percevejos, principalmente *Nezara viridula* (Linnaeus), *Piezodorus guildinii* (Westwood) e *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), são considerados pragas chaves. A lagarta-da-soja, *A. gemmatalis*, é considerada o principal inseto desfolhador (PANIZZI, 1990; EMBRAPA, 2006).

O período de ocorrência de *A. gemmatalis* está correlacionado à latitude de localização da lavoura, tendo sido observado que os ataques mais precoces dessa praga ocorrem nas latitudes mais baixas, enquanto no sul do país os ataques são mais tardios (GAZZONI et al., 1988).

O controle das pragas é realizado geralmente por meio de aplicação de inseticidas. Os inseticidas em geral apresentam vantagens, como as de serem econômicos, de atuação imediata, tornando-se a única opção à disposição do agricultor quando a população de uma praga se aproxima do nível de dano econômico. Entre suas diversas desvantagens, encontra-se o espectro de ação, que inclui o efeito não

desejado sobre os inimigos naturais e ao meio ambiente, além de não realizar o controle total dos insetos-praga (SANTOS et al., 2006).

As plantas geneticamente modificadas representam outro método de controle de pragas que está sendo usado no mundo desde 1997. Em 2008, foram cultivados em 25 países, 125 milhões de hectares com plantas transgênicas no mundo, 9,4% maior que a safra anterior (JAMES, 2008). No Brasil, o uso de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos iniciou-se com a aprovação do algodão (MON 531) em 2005 (CTNBio, 2011).

O uso de plantas transgênicas, que expressam proteínas com atividade inseticida, vem conquistando um significativo espaço na agricultura mundial, por apresentar uma nova alternativa para o controle de insetos-praga, além de serem compatíveis com os princípios do manejo integrado de pragas (FRIZZAS et al., 2004). Mais recentemente, testes realizados com a soja transgênica cultivar IAS5 expressando uma endotoxina Cry1Ac modificada no controle da *A. gemmatalis*, realizada através da adição do gene gusa e o gene de resistência hygromycin *hpt* visando melhorar o desempenho da proteína Cry1Ac, mostraram alta eficiência de controle (HOMRICH et al., 2008).

A soja geneticamente modificada resistente a insetos (MON 87701), cuja inserção do gene foi realizada nos Estados Unidos está sendo testada no Brasil para controle dos principais lepidópteros. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia da soja MON 87701 x MON 89788, que expressa a proteína Cry1Ac, no controle das lagartas desfolhadoras da soja, *A. gemmatalis* e *P. includens*.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Distribuição geográfica e hospedeiros de *A. gemmatalis*

A lagarta-da-soja, *A. gemmatalis* é uma espécie de clima tropical e sub-tropical e ocorre desde o sul dos EUA até a Argentina (KING & SAUNDERS, 1985). No Brasil, esta praga pode ocasionar reduções significativas na produção, com infestações desde Goiás e Mato Grosso até o Rio Grande do Sul (PANIZZI, 1990).

No entanto, com a rápida expansão da cultura da soja na década de 1960 para outros estados, novas cultivares foram desenvolvidas através do melhoramento genético. São poucos os estudos que apontam os reais danos causados por *A. gemmatalis*, mas o registro do desfolhamento em cultivares anteriormente utilizados demonstra que o inseto pode reduzir até 100% da área foliar, com reduções de 33% na produção (RAMIRO & OLIVEIRA, 1975).

A importância da lagarta-da-soja é ressaltada principalmente na cultura da soja, mas apesar de não apresentar grande número de hospedeiros, eventualmente pode ocorrer nas culturas do amendoim, alfafa e girassol, principalmente se tais culturas forem plantadas posteriormente à colheita da soja. Com a eliminação da planta preferencial, os insetos passam a atacar plântulas de outros hospedeiros podendo também causar sérios danos (EMBRAPA, 2000).

2.2 Características morfológicas e biológicas de *A. gemmatalis*

O adulto de *A. gemmatalis* é uma mariposa de coloração cinza, marrom ou bege, e na maioria das vezes apresenta uma linha transversal na parte superior das asas que pode ser notada quando as mariposas estão na posição de repouso. As mariposas apresentam em média, 40 mm de envergadura (BOTELHO et al., 1999; EMBRAPA, 2000).

Os ovos são depositados isoladamente na parte inferior das folhas, no caule, nos ramos e nos pecíolos com maior concentração nos terços médio e inferior das plantas. Os ovos apresentam coloração verde clara assim que depositados e, com o desenvolvimento do embrião, tornam-se acinzentados e, próximos à eclosão, passam à coloração marrom escura. O período embrionário é de, aproximadamente, três dias e cada fêmea tem capacidade de colocar até 1000 ovos, sendo que cerca de 80% são depositados nos primeiros oito a dez dias de vida. A longevidade das fêmeas é de, aproximadamente, vinte dias (EMBRAPA, 2000).

Nos dois primeiros ínstaes, as lagartas medem, em média, 3 e 9 mm, respectivamente, e apresentam os dois primeiros pares de falsas pernas. A locomoção de lagartas de primeiro e segundo ínstar é medindo palmos, o que pode causar confusão com a lagarta falsa-medideira *P. includens*. Lagartas de primeiros ínstaes iniciam a alimentação com a raspagem do parênquima foliar, principalmente em folhas mais tenras, imediatamente após a eclosão, e somente a partir do terceiro ínstar conseguem perfurar as folhas. A fase larval tem duração de doze a quinze dias e as lagartas em altas infestações podem causar danos de até 100% de área foliar consumida. A lagarta apresenta coloração esverdeada, com 5 estrias longitudinais brancas sobre o dorso (GALLO et al., 2002). Em condições de alta população, ou escassez de alimento, a lagarta torna-se escura, mantendo as estrias brancas. Possui cinco falsas pernas no abdômen e passa por seis ínstaes larvais, podendo atingir 40 mm de comprimento. Ao final da fase larval, a lagarta cessa a alimentação e passa à fase de pré-pupa, que pode variar de um a dois dias. A lagarta na fase de pupa permanece no solo, numa profundidade de até 2 cm, e apresenta coloração marrom escura e brilhante. A fase de pupa apresenta duração de nove a dez dias em temperatura de 25°C e após esse período ocorre a emergência das mariposas (EMBRAPA, 2000).

2.3 Distribuição geográfica e hospedeiros de *P. includens*

Sua distribuição é restrita ao hemisfério ocidental, ocorrendo desde o norte dos EUA até o sul da América do Sul (EICHLIN & CUNNINGHAM, 1978; ALFORD & HAMMOND JUNIOR, 1982). A sua importância é ressaltada pelo grande número de hospedeiros, que podem chegar a 73 espécies de plantas, pertencentes a 29 diferentes famílias. Dentre as plantas estão culturas de importância econômica, como a soja, algodoeiro, feijoeiro, fumo, girassol, hortaliças (EICHLIN & CUNNINGHAM, 1978; HERZOG, 1980). A frequência de *P. includens* nas lavouras de soja tem aumentado no Brasil, causando danos significativos às plantas, principalmente pela dificuldade do controle em relação a *A. gemmatilis*, sendo necessárias doses maiores de inseticidas e também pelo fato dessa praga ocorrer no estágio reprodutivo, localizada no terço inferior e médio das plantas, dificultando a penetração das gotas de inseticidas (EMBRAPA, 2008). A *P. includens* sempre esteve presente na cultura da soja no Brasil e seus danos geralmente são grandes, exigindo medidas de controle em várias épocas durante todo o ciclo da planta (KOGAN & TURNPSEED, 1987), nos últimos 2 anos essa praga tornou-se praga principal na cultura da soja.

2.4 Aspectos morfológicos e biológicos de *Pseudoplusia includens*

P. includens é um inseto que se alimenta de folhas localizadas no terço inferior da planta. As lagartas, nos primeiros instares, selecionam as folhas mais tenras, se alimentando daquelas com pequena quantidade de fibra (KOGAN & COPE, 1974), tornando-se menos exigentes à medida que vão se desenvolvendo. Até o terceiro ínstar, as lagartas deixam intactas regiões da epiderme. A partir do quarto ínstar, consomem grandes áreas, mantendo, porém, íntegras as nervuras principais, o que confere um aspecto rendilhado característico às folhas atacadas (HERZOG, 1980).

Em criações de laboratório foi observado que o ovo de *P. includens* é depositado de forma isolada, com diâmetro de 0,52mm a 0,53mm, de cor amarela brilhante com 31 a 33 costas radiais e distintas costas transversais. A dieta pode alterar a coloração dos

ovos. Não existem sinais de desenvolvimento embrionário até aproximadamente, 36 h após a oviposição. O período de incubação, a 25°C, é de três dias. A viabilidade dos ovos pode variar de 39,7 a 100%, sendo que estas diferenças estão relacionadas principalmente às metodologias utilizadas nas pesquisas (MITCHEL, 1967; JENSEN et al., 1974; YOUNG & YEARIAN, 1982; BEACH & TODD, 1985). O início para transformação em pré-pupa é visualizado por uma acentuada mudança de coloração.

No campo, para transformar-se em pupa, *P. includens* geralmente enrola-se nas folhas e tece um fino casulo de seda (SHOREY et al., 1962). A pupa é de coloração verde clara brilhante, mantendo esta coloração até 48 horas antes da emergência, quando adquire a coloração marrom escura (VÁZQUEZ, 1986).

A longevidade dos adultos também é muito variável, podendo ser de 9,8 até 18,2 dias (MASON & MACK, 1984). O número total médio de ovos pode variar de 144 a 1953 ovos, sendo que 80 a 90% do total de ovos são colocados até o sétimo dia (VÁZQUEZ, 1986).

2.5. Consumo foliar de *A. gemmatalis* e *P. includens*

O consumo de folhas por *A. gemmatalis* durante a fase larval pode variar de 84 cm² (BOLDT et al., 1975) a 121,2 cm² (HERZOG & TODD, 1980), podendo incrementar o consumo de folhas com o aumento da temperatura (MAGRINI et al., 1998). Para *P. includens* o consumo pode variar de 114 cm² (BOLDT et al., 1975) a 120 cm² (GALLO et al., 2002). Em ambas as espécies 90% do consumo foliar ocorre nos dois últimos instares (BOLDT et al., 1975). A diferença entre genótipos pode variar de 74,2 a 94,9 cm² para *A. gemmatalis* e de 63,9 a 92,7 cm² para *P. includens* (BUENO et al., 2010).

A desfolha no estágio vegetativo não reduz o rendimento de grãos na mesma proporção daquela nos estádios reprodutivos, sendo que os estádios reprodutivos R4 e R5 são os mais suscetíveis que podem levar a maior perda de produtividade (FEHR, et al., 1981). Charles et. al (1999) verificaram que desfolhas em R5 resultaram em perdas de 10% ou mais na produtividade do que no estágio reprodutivo R2.

2.6 Soja modificada geneticamente

Inicialmente houve desenvolvimento de soja resistente ao herbicida glifosato. Com o desenvolvimento desta soja geneticamente modificada, tem se observado vantagens, tais como diminuição do uso de herbicidas mais tóxicos em termos de ação residual do que o glifosato, assim como a facilidade de manejo (ABRAHÃO, 2008).

No caso de resistência a insetos, a soja MON 87701 foi gerada pela introdução dos genes *cry1Ac* e *cp4 syn* na variedade de soja A5547 por meio da metodologia de transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. As sequências para expressão desses genes foram construídas em um mesmo plasmídeo, mas em T-DNAs diferentes, para que pudessem segregar independentemente. O gene *cp4 syn* foi utilizado como marcador de seleção e depois foi segregado do gene de interesse, o *cry1Ac*, na geração R1. Plantas contendo apenas o gene *cry1Ac* foram identificadas e a soja MON 87701 foi selecionada. A soja foi geneticamente modificada para expressar a proteína Cry1Ac. A expressão desta proteína na soja MON 87701 proporciona controle de alguns lepidópteros. A soja MON 89788 (soja tolerante ao glifosato), por sua vez, foi produzida através da metodologia de transformação genética da variedade de soja A3244 mediada por *A. tumefaciens* para introdução do gene *cp4 epsps*. A única função da inserção do gene *cp4 epsps* que codifica a proteína CP4 EPSPS na soja é propiciar o controle eficaz de plantas daninhas nessa cultura com o uso do herbicida glifosato. A produção da CP4 EPSPS na planta confere a tolerância ao glifosato. As proteínas EPSPS fazem parte da via metabólica de biossíntese de aminoácidos aromáticos e compostos fenólicos, os quais promovem a alongação celular e a dominância apical. O modo de ação do glifosato inicia-se pelo bloqueio dessa enzima e a sua inativação pelo herbicida desencadeia uma série de reações em cadeia que leva a planta à morte. Entretanto, a proteína CP4 EPSPS não é bloqueada pelo glifosato, o que permite o crescimento normal das plantas quando tratadas com o herbicida. As sequências para expressão desse gene foram construídas em um mesmo plasmídeo, que consiste de um único cassete de expressão. Somente o gene *cp4 epsps* foi transferido para o genoma da soja, gerando a soja MON 89788. As sequências de DNA utilizadas

(elementos genéticos e seqüências regulatórias) e a proteína produzida pelo gene *cp4 epsps* (proteína CP4 EPSPS) são bem conhecidas. Assim, o gene exógeno inserido na soja MON 89788 é: - *cp4 epsps* que codifica a enzima CP4 EPSPS e foi isolado da *Agrobacterium spp.* A expressão deste gene confere a característica de tolerância ao glifosato. Por fim, como a soja MON 87701 x MON 89788 resultou do cruzamento da soja MON 87701 com a soja MON 89788 através de melhoramento genético clássico, contém os genes *cry1Ac* e *cp4 epsps*, e as seqüências regulatórias necessárias à expressão desses genes conferindo as características de resistência a insetos e tolerância ao glifosato (MCT, 2010; MONSANTO, 2003).

A demanda atual pelo aumento da produtividade associado a preservação dos recursos naturais demandam tecnologias de fácil acesso, manejo e controle satisfatório de pragas, doenças e plantas daninhas. A adoção rápida da biotecnologia no Brasil tem ocorrido devido ao aumento da produtividade pelas culturas que apresentam a resistência a alguns lepidópteros através do uso de plantas geneticamente modificadas (BETZ et al., 2000).

O uso de *Bacillus thuringiensis* na forma de bioinseticida na agricultura é utilizada durante várias décadas, principalmente pela segurança ambiental (De MAAGD, et al., 1999).

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental da Monsanto do Brasil Ltda. (21°49'S, 47°16'O), a qual se localiza no município de Santa Cruz das Palmeiras, SP, em condições de casa-de-vegetação, no período de 2008 a 2010. Esta Estação possui o Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB nº 003/96) e experimentos foram instalados com prévia autorização da Comissão Interna de Biossegurança (CIBio) da Monsanto do Brasil Ltda, seguindo-se as normas estabelecidas pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança.

3.1.1 Casa-de-vegetação

Os ensaios foram conduzidos em gaiolas, as quais foram acondicionadas em casa-de-vegetação, cujas condições ambientais foram mantidas em $26\pm 5^{\circ}\text{C}$ e $60\pm 10\%$ UR durante o dia, e $16\pm 10^{\circ}\text{C}$ e $40\pm 10\%$ UR à noite; e fotoperíodo natural (fotofase de aproximadamente 12 h). A casa-de-vegetação possui mureta de alvenaria, com altura de 0,4 m, e complementadas com filme plástico (polietileno) transparente, com espessura de 150 micra e tratamento contra raios ultravioleta. O teto também é recoberto pelo filme plástico de polietileno. O chão é composto por solo batido, com corredor em concreto de 0,5 m de largura localizado no centro. O acesso ao interior da casa-de-vegetação foi sempre realizado através de uma única porta, com antecâmara construída com armação de aço galvanizado recoberto por plástico e tela anti-afídeo (50 mesh), para impedir a entrada de insetos.

3.1.2 Gaiolas

Os ensaios foram conduzidos em gaiolas com tela anti-afídeo (50mesh), mantidas sob estrutura de cano galvanizado com dimensões de 3 m de comprimento x 2 m de largura x 1,5 m de altura (Figura 1).

O acesso ao interior das gaiolas podia ser realizado pela abertura de um zíper presente em uma das laterais.

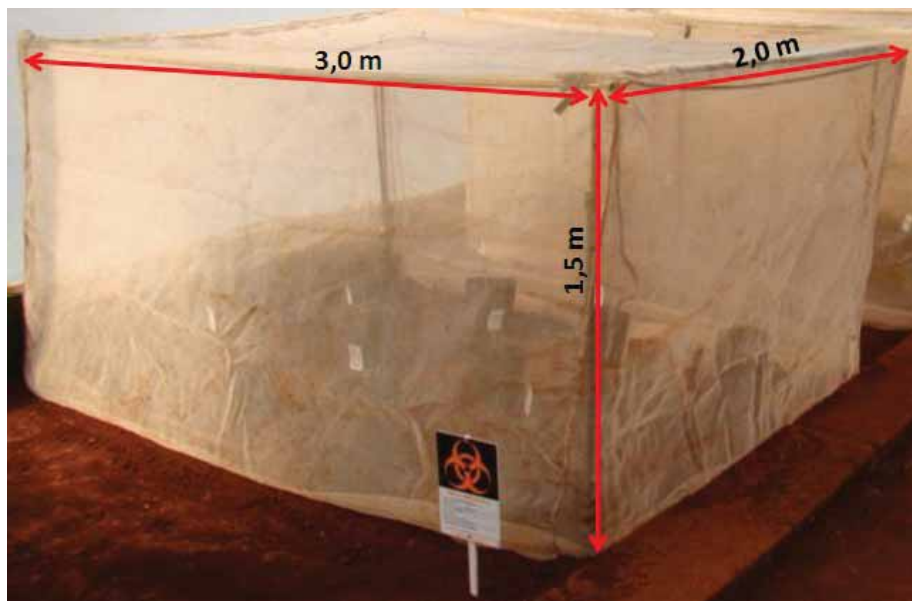


Figura 1. Gaiola de tela anti-afídeo utilizada para condução de avaliação da mortalidade de lagartas de *A. gemmatalis* e *P. includens*.

Assim, a casa-de-vegetação e a gaiola com tela anti-afídeo impediram a entrada de predadores no local dos ensaios.

3.2 Genótipos

Os genótipos utilizados nos ensaios foram: soja M 8329 isogênica não transgênica; soja M8329 transgênica com o evento MON 87701 × MON 89788

resistente a insetos que expressa a proteína Cry1Ac e a soja M 8360 RR resistente ao herbicida glifosato.

Inicialmente, as sementes foram tratadas com os produtos Derosal Plus (carbendazim – 150 g/L + tiram – 350 g/L) na dose de 0,2 L/100 kg de sementes, Masterfix (inoculante turfoso) na dose de 0,15 L/100 kg de sementes e Standak (fipronil – 250 g/L) na dose de 0,2 L/100 kg de sementes.

Em seguida os genótipos foram semeados em vasos plásticos (23 cm de diâmetro x 22 cm de altura x 20 cm de base), contendo solo e adubo (15-60-60 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ e K₂O, respectivamente). Cada vaso recebeu sementes de soja que foram inseridas a uma profundidade de aproximadamente 3 cm. Após quinze dias da semeadura foi realizado o desbaste, mantendo-se apenas uma planta por vaso. As plantas foram irrigadas manualmente conforme necessidade hídrica diária, com volume entre 300 a 500 mL/dia.

Aos vinte e dois dias após o plantio foi realizada a primeira aplicação do fungicida Derosal 500 SC, composto por carbendazim (500 g/L) na dose de 500 mL/ha do produto comercial e aos trinta e oito dias após o plantio foi realizada a segunda aplicação com o fungicida Piori Xtra com concentração de 200 g/L + 80 g/L (azoxistrobina + ciproconazol) de ingrediente ativo na dose de 0,3 L/ha da formulação comercial. Ambas as aplicações foram realizadas de forma preventiva, para controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi*.

3.3 Criação dos insetos

Os insetos utilizados nos experimentos, *A. gemmatilis* e *P. includens*, foram obtidos de criação artificial mantida no laboratório de criação de insetos da Gravena ManEcol Ltda, localizado em Jaboticabal, SP. Nessa criação, os indivíduos foram mantidos em dieta artificial, segundo metodologia proposta por GREENE et al. (1976). Após a empupação, os insetos foram separados por sexo (BUTT & CANTU, 1962) e transportados para o local do experimento.

3.4 Experimentos preliminares

Experimentos com o genótipo de soja RR foram conduzidos com o objetivo de verificar o melhor método de infestação assim como o número ideal de ovos, larvas e pupas para se garantir a infestação. O experimento com infestação de ovos de *A. gemmatalis* e *P. includens* foi realizado a campo, não foi eficiente devido à predação principalmente por formigas e alta precipitação.

Também foi instalado experimentos com larvas neonatas e de terceiro instar. O experimento com neonatas apresentou alta mortalidade dos insetos devido a sensibilidade durante a transferência do recipiente de criação para as plantas.

O experimento com larvas de terceiro instar realizado à campo também apresentou alta mortalidade das larvas. Acredita-se que a diferença de temperatura associada a mudança de alimentação do laboratório é baseada em (dieta artificial) e no campo foram folhas de soja contribuíram para o insucesso da infestação.

Devido a dificuldade dos métodos testados em campo, também foram testados os mesmos métodos em casa-de-vegetação, porém foi adicionado o método de infestação por pupas. Foram testados diferentes número de pupas, devidamente separadas por sexo para formação de casais (10, 50, 100, 300 e 400). O método baseado na infestação por meio de pupas, foi eficaz, sendo que 100 e 400 pares de pupas (casais) foram os níveis que mais se aproximaram de desfolhas entre 15 e 30% (baixa infestação) e desfolhas acima de 70% (alta infestação) consequentemente.

3.5 Experimento 1 – *A. gemmatalis*

3.5.1 Infestação das plantas

A infestação das plantas de soja foi realizada por meio de pupas. Assim, as pupas devidamente separadas por sexo foram mantidas em caixas de papelão contendo vermiculita e colocadas no interior das gaiolas para permitir a emergência dos

adultos. As pupas foram colocadas em duas caixas de papelão, sendo uma para as fêmeas e outra para machos. No fundo das caixas foi colocado vermiculita (Figura 2). Adotou-se três níveis de infestação para *A. gemmatalis*, sendo: sem infestação (testemunha), 100 casais (baixa infestação) e 400 casais (alta infestação). A infestação baixa tem o objetivo de causar desfolha entre 15 e 30%, pois são níveis preconizados no manejo integrado de pragas no Brasil. A infestação alta visa colocar os genótipos em situações acima da realidade do campo.

Aos dezenove dias após a emergência dos primeiros adultos, realizou-se a contagem das pupas que não deram origem aos adultos e, desse modo, aferiu-se a viabilidade de emergência de machos e fêmeas. Com isso, verificou-se que na baixa infestação houve viabilidade de emergência de 64,7% para fêmeas e de 66,7% para machos, em média, enquanto na alta infestação a viabilidade foi de 79,3% para fêmeas e de 75,6% para machos.



Figura 2. Pupas de *A. gemmatalis* mantidas em caixas de emergência.

Adotou-se o delineamento de blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas com três tratamentos primários (níveis de infestação) e três tratamentos secundários (genótipos), conforme descrito na Tabela 2. Cada gaiola conteve quatro vasos de cada genótipo, totalizando doze vasos/parcela. O conjunto dos vasos do mesmo genótipo representou a sub-parcela. O experimento teve quatro repetições.

Tabela 2. Tratamentos utilizados no experimento para avaliação da eficácia de controle de genótipo contendo a proteína Cry1Ac sobre *A. gemmatalis*.

Tratamento	Nível de infestação	Sub-parcelas (genótipos)
1	-	soja MON 87701 x MON 89788 soja isogênica não transgênica soja RR (M 8360 RR)
2	Baixa	soja MON 87701 x MON 89788 soja isogênica não transgênica soja RR (M 8360 RR)
3	Alta	soja MON 87701 x MON 89788 soja isogênica não transgênica soja RR (M 8360 RR)

3.5.2 Avaliações

Inicialmente foi realizada a avaliação da presença de ovos. Esta avaliação foi realizada logo após a observação das primeiras lagartas neonatas. Essa contagem foi realizada em todas as folhas (adaxial e abaxial), bem como no caule das plantas.

No início das primeiras raspagens pelas lagartas, ocorrido aos nove dias após a emergência dos adultos nas gaiolas, iniciou-se a avaliação visual de desfolha, adotando-se escala proposta por HAMMOND et al. (2009). As avaliações foram realizadas aos treze, dezesseis e dezoito dias após a emergência dos adultos.

Também realizou-se a avaliação da área foliar por meio da medição direta não destrutiva. Esta avaliação foi realizada com o auxílio de um medidor portátil LI-COR LI3100 aos vinte e um dias após a emergência dos adultos. As folhas de cada folíolo foram passadas no scanner manual sem retirar da planta. O equipamento LI-COR acumulou a área foliar de cada folha e a área total de cada planta foi determinada (LI-COR, 2006; ADAMI, et al., 2008).

3.6 Experimento 2 – *P. includens*

3.6.1 Infestação das plantas

A infestação das plantas de soja também foi realizada por meio de pupas, de forma semelhante ao realizado para o experimento com *A. gemmatalis*. Assim, as pupas devidamente separadas por sexo foram mantidas em caixas de papelão contendo vermiculita e no interior das gaiolas para permitir a emergência dos adultos. Adotou-se dois níveis de infestação para *P. includens*, sendo: 100 casais (baixa infestação) e 400 casais (alta infestação). A infestação foi realizada no estádio reprodutivo R5.3 (FEHR et al., 1971).

A avaliação da viabilidade das pupas foi realizada aos dezoito dias após a emergência dos primeiros adultos. Com isso, verificou-se que na baixa infestação, houve viabilidade de emergência de 55,2% para fêmeas e de 58,5% para machos, em média, enquanto que na alta infestação a viabilidade foi de 53,3% para fêmeas e de 49,1% para machos.

Adotou-se o delineamento de blocos casualizados, no esquema de parcelas subdivididas com dois tratamentos primários (níveis de infestação) e três tratamentos secundários (genótipos), conforme descrito na Tabela 3. Cada gaiola conteve quatro vasos de cada genótipo, totalizando doze vasos/parcela. O conjunto dos vasos do mesmo genótipo representou a sub-parcela. O experimento teve quatro repetições.

Tabela 3. Tratamentos utilizados no experimento para avaliação da eficácia de controle de genótipo contendo a proteína Cry1Ac sobre *P. includens*.

Tratamento	Nível de infestação	Sub-parcelas (genótipos)
1	Baixa	soja MON 87701 x MON 89788 soja isogênica não transgênica soja RR (M 8360 RR)
2	Alta	soja MON 87701 x MON 89788 soja isogênica não transgênica soja RR (M 8360 RR)

3.6.2 Avaliações

As avaliações de contagem de ovos, porcentagem de desfolha e área foliar (cm²) foram realizadas conforme metodologia de avaliação de *A. gemmatilis* descrita no item 3.4.2.

3.6.3 Análise Estatística

Verificou-se inicialmente se os dados apresentavam homogeneidade de variância (distribuição normal). Nos casos em que isto não ocorreu, os dados referentes ao número de ovos, desfolha (%) e área foliar foram transformados em $\log(x+1)$, $\sqrt{x+0,5}$ e $\log(x+1)$, respectivamente. Em seguida, realizou-se análise de variância para avaliar o efeito dos níveis de infestação da praga (efeito principal) e genótipos de soja (efeito secundário – sub-parcela). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância, utilizando o software estatístico Agricultural Research Manager (ARM, 2007).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1 - *A. gemmatalis*

O número médio de ovos de *A. gemmatalis* encontrados variou entre 45,7 e 270,3 ovos por planta (Tabela 4). Nos diversos níveis de infestação avaliados, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os genótipos para este parâmetro. Assim, como o experimento foi instalado com chance de escolha, as fêmeas de *A. gemmatalis* não conseguiram discriminar os diferentes genótipos. Dessa forma, a inserção de genes responsáveis pela expressão da proteína Cry1Ac não alterou a composição da planta de forma a proporcionar efeito sobre preferência para oviposição pelos adultos de *A. gemmatalis*. Isso também foi observado em milho expressando a proteína Cry1Ab (MARTINELLI et al., 2001).

Pôde-se verificar que o maior nível de infestação, que é aproximadamente, 5 vezes maior do que a infestação considerada baixa, também levou à oviposição de aproximadamente cinco vezes mais ovos. Dessa forma, isso indica que não houve efeito negativo da competição intraespecífica por sítio de oviposição. Ainda, baseado no número de fêmeas emergidas, pode-se inferir que, em média, cada uma ovipositou 211 ovos. Isto está de acordo com a observação de MOSCARDI et al. (1981).

Tabela 4. Número médio (\pm EPM) de ovos de *A. gemmatalis* depositados por planta, em diferentes genótipos de soja.

Genótipos	Infestação	Número médio de ovos/planta ¹			
Soja MON 87701 x MON 89788		0,00	\pm	0,00	c
Soja isogênica não transgênica		0,00	\pm	0,00	c
Soja RR (M 8360 RR)		0,00	\pm	0,00	c
Soja MON 87701 x MON 89788		45,75	\pm	0,20	b
Soja isogênica não transgênica	Baixa	56,50	\pm	0,17	b
Soja RR (M 8360 RR)		46,00	\pm	0,09	b
Soja MON 87701 x MON 89788		256,00	\pm	0,19	a
Soja isogênica não transgênica	Alta	270,31	\pm	0,24	a
Soja RR (M 8360 RR)		205,56	\pm	0,12	a

¹Dados originais, os quais foram transformados em $\log(x+1)$ para a análise de variância. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Os primeiros sintomas de desfolha iniciaram aos quinze dias após a emergência dos adultos (DAEA), momento em que as lagartas estavam no primeiro ínstar e a cultura se encontrava no estágio reprodutivo R5.2. As estimativas visuais de desfolha apresentaram variações significativas ($P < 0,001$) entre os tratamentos. Nos genótipos de soja isogênica não transgênica e de soja RR que não expressam a proteína Cry1Ac e sob baixa infestação da lagarta-da-soja, a desfolha avaliada visualmente variou de 0,2% aos 15 DAEA e atingiu 11,06% aos 21 DAEA, sendo essa injúria causada por lagartas de primeiro a quarto ínstar. Nestes mesmos genótipos, porém sob alta infestação, a variação foi de 5,4 a 92,2%. Nota-se, dessa forma, que em seis dias houve um aumento de cerca de 23 vezes, em média, na percentagem de desfolha avaliada visualmente (Tabela 5). Independente do nível de infestação por *A. gemmatalis* e do período em que as plantas estiveram sob exposição à praga, o genótipo MON 87701 x MON 89788 não apresentou qualquer injúria visualmente perceptível. Sabe-se que desfolhas superiores a 30% no período vegetativo e 15% no período reprodutivo causam perdas de produtividade (EMBRAPA, 2010). Portanto, os genótipos que não expressam a proteína Cry1Ac necessitam de avaliação da infestação e, conseqüentemente, tomada de

decisão de controle da praga. Por outro lado, o genótipo MON 87701 x MON 89788 não necessita de tal avaliação.

Tabela 5. Porcentagem (\pm EPM) média de desfolha causada por *A. gemmatalis* em diferentes genótipos de soja.

Tratamentos		Desfolha (%) ¹					
Genótipos	Infestação	13 DAEA	16 DAEA	19 DAEA			
Soja MON 87701 x MON 89788		0,0 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 c			
Soja isogênica não transgênica	-	0,0 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 c			
Soja RR (M 8360 RR)		0,0 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 c			
Soja MON 87701 x MON 89788		0,0 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 c			
Soja isogênica não transgênica	Baixa	1,3 \pm 0,15 b	5,00 \pm 0,66 b	11,06 \pm 0,67 B			
Soja RR (M 8360 RR)		0,2 \pm 0,19 b	3,69 \pm 0,62 b	10,94 \pm 1,29 b			
Soja MON 87701 x MON 89788		0,0 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 b	0,00 \pm 0,00 c			
Soja isogênica não transgênica	Alta	5,4 \pm 0,13 a	20,44 \pm 1,90 a	89,88 \pm 0,77 a			
Soja RR (M 8360 RR)		6,3 \pm 0,54 a	19,31 \pm 0,54 a	92,25 \pm 0,58 a			

¹Dados originais, os quais foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para a análise de variância.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Os resultados da mensuração da área foliar remanescente, ocorrida aos vinte e um dias após a emergência dos adultos, mostram a soja resistente a insetos MON 87701 × MON 89788 apresentou valores significativamente maiores ($P < 0,001$) do que os demais genótipos. Nesse genótipo, a despeito do nível de infestação, não houve diferença significativa da área foliar remanescente, cujo valor médio foi de 1281,18 cm² (Tabela 6).

Os tratamentos de soja isogênica não transgênica (M 8329) e soja RR (M 8360 RR) em alta infestação apresentaram áreas foliares de 291,42 e 228,55 cm², respectivamente, enquanto que a soja transgênica que expressa a proteína Cry1Ac teve 1209,83 cm² (Tabela 6).

A área foliar (cm²) da soja isogênica não transgênica foi reduzida em 2,02 vezes pela *A. gemmatalis* na baixa infestação e 4,15 vezes na alta infestação em relação à soja MON 87701 × MON 89788. Desta forma, as plantas com ausência de expressão da proteína Cry1Ac apresentaram elevado nível de desfolha que pode comprometer a produção. Esses resultados confirmam a eficácia da soja MON 87701 × MON 89788 que expressa a proteína Cry1Ac, no controle da *A. gemmatalis*.

Plantas que expressam a proteína Cry1Ac controlam as lagartas quando estas iniciam a alimentação, podendo, na maioria dos casos, proporcionar controle total. A variedade de soja que expressa a proteína Cry1Ac causou mortalidade das larvas, pois não foi observado qualquer dano. O controle da *A. gemmatalis* proporcionado pela soja MON 87701 × MON 89788 foi devido à expressão da proteína Cry1Ac, proteína com ação inseticida também já utilizada no algodão geneticamente modificado, para controle de lepidópteros (JACKSON et al., 2003).

Tabela 6. Área foliar média (\pm EPM) de genótipos de soja sob diferentes níveis de infestação de *A. gemmatilis*.

Genótipos	Infestação	Área foliar ¹ cm ²		
Soja MON 87701 x MON 89788		1336,42	\pm 0,06	a
Soja isogênica não transgênica	-	1416,26	\pm 0,01	a
Soja RR (M 8360 RR)		1559,58	\pm 0,02	a
Soja MON 87701 x MON 89788		1297,30	\pm 0,02	a
Soja isogênica não transgênica	Baixa	641,28	\pm 0,12	b
Soja RR (M 8360 RR)		596,67	\pm 0,06	b
Soja MON 87701 x MON 89788		1209,83	\pm 0,05	a
Soja isogênica não transgênica	Alta	291,42	\pm 0,07	c
Soja RR (M 8360 RR)		228,55	\pm 0,10	c

¹Dados originais, os quais foram transformados em $\log(x+1)$ para a análise de variância. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

4.2 Experimento 2 - *P. includens*

De modo semelhante ao observado para *A. gemmatalis*, os adultos de *P. includens* não discriminaram os genótipos (Tabela 7). Assim não verificou diferença significativa ($P > 0,05$) no número de ovos depositados pelas fêmeas nas plantas para o mesmo nível de infestação.

Em contraste com *A. gemmatalis*, *P. includens* ovipositou menos, sendo que na baixa infestação observou-se variação de 16,50 a 18,38 ovos por planta, enquanto que na alta infestação este valor variou de 64,63 a 66,88 ovos por planta, em média. Verificou-se assim que o número de ovos depositados por fêmeas em situação de alta infestação foi cerca de 4 vezes maior do que em baixa infestação. Esse valor é também bem próximo da variação entre o número de fêmeas liberadas nos tratamentos (alta e baixa infestação). Portanto, não houve também efeito negativo da competição intraespecífica sobre a oviposição.

Baseando-se no número de fêmeas emergidas e ovos contados em apenas um momento, pode-se inferir que *P. includens* ovipositou pelo menos 55 ovos/fêmea, sendo que essa espécie é capaz de colocar mais de 600 ovos durante seu período de vida (VÁZQUEZ, 1986; EMBRAPA, 2000).

Tabela 7. Número médio (\pm EPM) de ovos de *P. includens* depositados por planta, em diferentes genótipos de soja.

Genótipo	Infestação	Número médio de ovos/planta ¹		
Soja MON 87701 x MON 89788		18,38	\pm 1,58	b
Soja isogênica não transgênica	Baixa	17,44	\pm 1,03	b
Soja RR (M 8360 RR)		16,50	\pm 0,53	b
Soja MON 87701 x MON 89788		65,13	\pm 2,44	a
Soja isogênica não transgênica	Alta	64,63	\pm 7,41	a
Soja RR (M 8360 RR)		66,88	\pm 6,12	a

¹Dados originais, os quais foram transformados em $\log(x+1)$ para a análise de variância.
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

A porcentagem média de desfolha dos genótipos de soja isogênica não transgênica e soja RR avaliada visualmente aos 14, 17 e 19 DAEA em ambos os níveis de infestação foi crescente e variou entre 1,81 e 85,31%. O nível de desfolha para estes dois genótipos não foi significativamente diferente ($P>0,05$) dentro do nível de infestação. O menor percentual de desfolha, entretanto, ocorreu no tratamento composto pela soja MON 87701 x MON 89788 (Tabela 8). As plantas que expressam a proteína Cry1Ac não apresentaram qualquer injúria (nível de desfolha foi 0%).

Tabela 8. Porcentagem média (\pm EPM) de desfolha causada por *P. includens* em diferentes genótipos de soja.

Tratamentos		Desfolha (%) ¹		
Genótipos	Infestação	14 DAEA	17 DAEA	19 DAEA
Soja MON 87701 x MON 89788		0,00 \pm 0,00 c	0,00 \pm 0,00 c	0,00 \pm 0,00 c
Soja isogênica não transgênica	Baixa	1,94 \pm 0,40 b	32,19 \pm 0,31 b	75,00 \pm 2,17 b
Soja RR		1,81 \pm 0,28 b	32,19 \pm 0,79 b	75,63 \pm 1,94 b
Soja MON 87701 x MON 89788		0,00 \pm 0,00 c	0,00 \pm 0,00 c	0,00 \pm 0,00 c
Soja isogênica não transgênica	Alta	4,44 \pm 0,12 a	38,13 \pm 0,63 a	84,06 \pm 1,56 a
Soja RR		4,63 \pm 0,16 a	39,38 \pm 0,63 a	85,31 \pm 1,07 a

¹Dados originais, os quais foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para a análise de variância.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Os maiores valores de área foliar remanescentes aos 21 DAEA foram obtidos com a soja MON 87701 × MON 89788 (1546,75 e 1645,69 cm²) em ambos os níveis de infestação, não apresentando diferença estatística significativa entre si (P>0,05). A soja RR (M 8360 RR) e a soja isogênica não transgênica (M 8329) tiveram a área foliar reduzida em 2,14 e 2,05 vezes, respectivamente, em relação à soja MON 87701 × MON 89788 (Tabela 9).

Tabela 9. Área foliar média (± EPM) de genótipos de soja sob diferentes níveis de infestação de *P. includens*.

Tratamentos		Área foliar (cm ²) ¹		
Genótipos	Infestação			
Soja MON 87701 × MON 89788	Baixa	1546,75	± 1,92	a
Soja isogênica não transgênica		755,44	± 12,86	b
Soja RR (M 8360 RR)		721,44	± 20,05	b
Soja MON 87701 × MON 89788	Alta	1645,69	± 21,01	a
Soja isogênica não transgênica		478,69	± 23,43	c
Soja RR (M 8360 RR)		516,31	± 26,34	c

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

O controle das larvas de primeiro ínstar de *P. includens* exercido pela soja MON 87701 × MON 89788, deve-se a expressão de Cry1Ac, que nas folhas podem atingir a concentração de cerca de 450 µg.g⁻¹ de peso seco (MONSANTO, 2003).

A expressão da proteína Cry1Ac na soja resistente a insetos evento MON 87701 × MON 89788 mostrou-se eficiente para o controle de *P. includens*, sendo este resultado diferente daquele obtido por WALKER et al. (2000) na cultura da soja que demonstrou baixa eficiência de Cry1Ac para controle de *P. includens*. A proteína Cry1A, diferente da proteína usada nesse trabalho, foi eficiente apenas para o controle de *P. includens* em bioensaio (MIKLOS et al., 2007).

Assim, este é o primeiro relato de eficácia da proteína Cry1Ac expressa na soja MON 87701 × MON 89788 sob condições de semi-campo. Esta proteína proporcionou nível de controle tanto para *A. gemmatilis* como para *P. includens*.

O uso de plantas geneticamente modificadas resistente a insetos com a expressão da proteína Cry tem sido mais uma alternativa para o manejo integrado de pragas, principalmente por não afetar a população de inimigos naturais, conforme já evidenciado na cultura do milho (FERNANDES et al., 2007; MARVIER et al., 2007) e algodão no Brasil (MARVIER et al., 2007). Da mesma forma que ocorreu com o milho e o algodão, a soja expressando proteína Cry1Ac também deverá ser mais uma ferramenta para o manejo integrado de pragas da soja no Brasil.

Assim, como é preconizado para os inseticidas, a utilização de genótipo geneticamente modificado em condições de campo deverá considerar estratégias de manejo da resistência. Para tanto, área de refúgio deverá ser adotada, de modo semelhante ao já preconizado para outras culturas (SA et al., 2009). Não obstante, esta não deverá receber aplicação de inseticidas biológicos a base de *Bacillus thuringiensis*.

V. CONCLUSÕES

1. A proteína Cry1Ac expressa na soja MON 87701 x MON 89788 causa alta mortalidade de lagartas *A. gemmatalis* e *P. includens* e impede redução foliar.
2. Adultos de *A. gemmatalis* e *P. includens* não discriminam a soja MON 87701 x MON 89788.

VI. REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, O. S. **Rastreabilidade de soja Roundup Ready em produtos agrícolas e derivados**: produção de materiais de referência e uso de marcadores AFLP. 2008. 124 f. Tese (Doutorado em Biologia na Agricultura e no Ambiente) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

ADAMI, M.; HASTENREITER, F. A.; FLUMIGNAN, D.; FARIA, R. T. Estimativa de área de folíolos de soja usando imagens digitais e dimensões foliares. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 4, p. 1053-1058, 2008.

AGRIANUAL: anuário da agricultura brasileira. Soja. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2011. p. 242-268.

ALFORD, A. R.; HAMMOND JUNIOR, A. M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with looplure-baited traps. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 75, n. 4, p. 647-650, 1982.

ARM. Agricultural Research Manager. Revision 7.3.6 June 7, 2007. 4th. ed. Urbana, 2007.

BEACH, R. M.; TODD, J. W. Toxicity of Avermectin to larva and adult soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) and influence on larva feeding and adult fertility and fecundity. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 78, n. 5, p. 1125-1128, 1985.

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

BOLDT, P. E.; BIEVER, R.; IGNOFFO, C. M. Lepidopteran pests of soybeans: Consumption of soybean foliage and pods and development. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 68, n. 4, p. 480-482, 1975.

BOTELHO, P. S. M.; SILVEIRA, S.N.; MAGRINI, E. A. **Fator chave para *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidade) em cultura de soja, para o estado de São Paulo.** Piracicaba, Scientia Agrícola, 1999. v. 56 n.4

BUENO, R. C. O. F. **Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions.** London, Society of Chemical Industry, 2010. v. 67: p. 170-174

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae.** Washington: United State of Department of Agriculture Research Service, 1962. p. 7. (ARS-33-75).

CHARLES, F. G.; GRIFFIN, L. J.; BOETHEL, D. J.; LEONARD, B. R.; JORDAN, D. L.; RUSSIN, J. S. Soybean response to weed interference and defoliation. **Weed Science**, Lawrence, v. 47, p. 90-94, 1999.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: soja, safra 2010/2011, sexto levantamento.** Brasília, 2011. p. 40.

CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biotecnologia. **Aprovações comerciais CTNBIO.** Disponível em: <<http://www.cib.org.br/ctnbio/eventosaprovadosfev11.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2011.

De MAAGD, R. A.; BOSCH, D.; STIEKEMA, W. ***Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants.** **Trends in Plant Sciences, London, v.4, p.9-13, 1999.**

EICHLIN, T. D.; CUNNINGHAM, H. B. The Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) of America North of Mexico, emphasizing genitalia and larval morphology. **Technical Bulletin**, Idaho, n. 1567, p. 1-122, 1978.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 70 p. (Circular Técnica, 30).

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia de produção de soja: região central do Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2006. p. 225.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologias de produção de soja: região central do Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2008. p. 280.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade**. Embrapa Soja, Londrina, PR, 2010. 12 p. (Circular Técnica, 79).

FEHR, W. R.; LAWRENCE, B. K.; THOMPSON, T. A. Critical stages of development for defoliation of soybean. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 259-262, 1981.

FEHR, W. R.; CAVINESSE, C. E.; BURMOOD, D. T.; PENNINGTON, J. S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, Madison, v. 11, p. 929-931, 1971.

FERNANDES, O. A.; FARIA, M.; MARTINELLI, S.; SCHMIDT, F.; CARVALHO, V. F.; MORO, G. Short-term assessment of bt maize on non-target arthropods in Brazil. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 64, n. 3, p. 249-255, 2007.

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

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHIN, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920p.

GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B.; CORSO, I. C.; FERREIRA, B. S. C.; VILLAS BOAS, G. L.; MOSCARDI, F. PANIZZI, A. R. **Manejo de pragas da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1988. p. 44. (Circular Técnica).

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Baltimore, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

HAMMOND, R. B.; MICHEL, A.; EISLEY, J.B. **Defoliators on soybean**. 2009. Disponível em: <<http://ohioline.osu.edu/ent-fact/pdf/0039.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2011.

HERZOG, D. C. Sampling soybean looper on soybean. In: KOGAN, M.; HERZOG, D.C. (Ed.). **Sampling methods in soybean entomology**. New York: Springer-Verlag, 1980. p. 140-168.

HERZOG, D.C., & TODD, J.W 1980. Sampling velvetbean caterpillar on soybean, p. 107-140. In: KOGAN, M. & HERZOG, D.C. (Eds.), **Sampling methods in soybean entomology**. New York, Springer-Verlag, 587 p.

HOMRICH, M. S.; PASSAGLIA, L. M. P.; PEREIRA, J. F.; BERTAGNOLLI, P. F. ; PASQUALI, G.; ZAIDI, M. A.; ALTOSAAR, I.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Resistance to *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) in transgenic soybean (*Glycine max* (L.) Merrill Fabales, Fabaceae) cultivar IAS5 expressing a modified Cry1Ac endotoxin. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, p. 522-531, 2008.

JACKSON, R. E.; BRADLEY, J. R.; VAN DUYN, J. W. Field performance of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* endotoxin against bollworm, *Helicoverpa zea* (Boddie). **Journal of Cotton Science**, Cordova, v. 7, p. 57-64, 2003.

JAMES, C. **Global status of commercialized Biotech/GM Crops**. Ithaca:ISAAA, 2008.(Brief, 35).

JENSEN, R. L.; NEWSOM, L. D.; GIBBENS, J. The soybean looper: effects of adult nutrition on oviposition, mating frequency, and longevity. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 67, p. 467-470, 1974.

KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. **Las plagas invertebradas de cultivos anuales em America Central**. London: Overseas Development Administration, 1985. p.182.

KOGAN, M.; COPE, D. Feeding and nutrition of insects associated with soybeans. **Annals of the Entomologica Society of America**, Lanham, v. 67, n. 1, p. 66-72, 1974.

KOGAN, M.; TURNPSEED, S.G. Ecology and management of soybean arthropods. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 32, p. 507-538, 1987.

LI-COR. **LI 3100 Instruction manual**. Lincoln, Nebraska, 2006. Disponível em: <www.licor.com>. Acesso em: 03 jan. 2011.

MAGRINI, E. A.; BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; HADDAD, M. L. Efeito da temperatura no consumo de alimento natural e dieta artificial por *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidóptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 42, n. 1-2, p. 23-25, 1998.

MARTINELLI, S. **Efeito de híbridos de milho Bt expressando toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre insetos herbívoros e agentes de controle biológico em condições de campo.** 2001. 139 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2001.

MARVIER, M.; MCCREEDY, C.; REGETZ, J.; KAREIVA, P. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on non-target invertebrates. **Science**, London, v. 316, p. 1475-1477, 2007.

MASON, L. J.; MACK, T. P. Influence of temperature on oviposition and adult female longevity for the soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera Noctuidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 13, n. 2, p. 379-383, 1984.

MCT. Ministério da Ciência e Tecnologia. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Secretaria Executiva. **Parecer Técnico nº2542/2010.** Disponível em: < bch.cbd.int/database/attachment/?id=10766>. Acesso em: 20 nov. 2010.

MIKLOS, J. A.; ALIBHAI, M. F.; BLEDIG, S. A. ; CONNOR-WARD, D. C. ; GAO, A-G; HOLMES, B. A.; KOLACZ, K. H.; KABUYE, V. T. ; MACRAE, T. C. ; PARADISE, M. S.; TOEDEBUCH, A. S.; HARRISON, L. A. Characterization of Soybean Exhibiting High Expression of a Synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1A Transgene That Confers a High Degree of Resistance to Lepidopteran Pests. **Crop Science**, Madison, v. 47, p. 148-157, 2007.

MITCHEL, E. R. Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Georgia Entomological Society**, Griffin, v. 2, n. 2, p. 53-57, 1967.

MONSANTO. **Application for authorization to place on the market MON 87701 x MON 89788 soybean in the European Union, according to Regulation (EC) No 1829/2003 on genetically modified food and feed.** 2003. Disponível em: <http://www.gmo-compass.org/pdf/regulation/soybean/MON87701xMON89788_soybean_application_food_feed.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2011.

MOSCARDI, F.; BARFIELD, C. S.; ALLEN, G. E. Consumption and development of velvetbean Caterpillar as influenced by soybean phenology. **Environmental Entomology**, Colleg Park, v. 10, n. 6, p. 880-884, 1981.

PANIZZI, A. R. Manejo integrado de pragas da soja no Brasil. In: CROCOMO, W. D. (Ed.). **Manejo integrado de pragas.** São Paulo: Ícone, 1990. cap.15, p. 293-321.

RAMIRO, Z. A.; OLIVEIRA, D. A. Influência da desfolhação artificial na produtividade da cultura da soja. **O Biológico**, São Paulo, v. 41, p. 97-104, 1975.

SA, V. G. M.; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. W. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Hospedeiros Alternativos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n.1, p. 108-115, 2009.

SANTOS, A. C.; BUENO, A. F. BUENO, R. C. O. F. Seletividade de defensivos agrícolas aos inimigos naturais. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. **Controle biológico de pragas na prática.** Piracicaba, 2006. p. 221-227.

SHOREY, H. H.; ANDRES, L. A.; HALE, R. L. The biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). I. Life history and behavior. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 55, n. 5, p. 591-597, 1962.

VÁZQUEZ, W. R. C. **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker), 1857 (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus de poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja.** 1986. 164 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1986.

WALKER, D.; RALL, J. N.; MCPHERSON, R. M.; BOERMA, H. R.; PARROTT, W. A. Field evaluation of soybean engineered with a synthetic *cry1Ac* transgenic for resistance to Corn Earworm, Soybean Looper, and Velvetbean Caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae), and Lesser Cornstalk Borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, p. 613-622, 2000.

XU, B.; ZHEN, H.; LU, Q.; ZHAO, S.; HU, Z. Three evidence of the original area of soybean. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 1988, Buenos Aires. **Proceedings...** Buenos Aires: Association Argentina de la Soja, 1989. p. 124-128.

YOUNG, S.Y.; YEARIAN, W.C. Nuclear polyhedrosis virus infection of *Pseudoplusia includens* (Lep.: Noctuidae) larvae effect on post larval stages and transmission. **Entomophaga**, Paris, v. 27, n. 1, p. 61-66, 1982.