

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

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE *Pseudoplusia includens*  
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM  
CULTIVARES CONVENCIONAIS E TRANSGÊNICAS DE  
ALGODOEIRO**

**Marina Funichello  
Engenheira Agrônoma**

**2012**

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

**ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE *Pseudoplusia includens*  
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM  
CULTIVARES CONVENCIONAIS E TRANSGÊNICAS DE  
ALGODOEIRO**

**Marina Funichello**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Junior**

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

**2012**

Funichello, Marina  
F979a Aspectos bioecológicos de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857)  
(Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares convencionais e transgênicas  
de algodoeiro / Marina Funichello. -- Jaboticabal, 2012  
iv, 58 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012  
Orientador: Antonio Carlos Busoli  
Co-Orientador: Arlindo Leal Boiça Junior  
Banca examinadora: Julio Cesar Guerreiro, Marcos Doniseti  
Michelotto, Odair Aparecido Fernandes, Nilza Maria Martinelli  
Bibliografia

1. Algodão Bt. 2. *Gossypium hirsutum* 3. Lagarta-mede-palmo da  
soja . 4. Plantas transgênicas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:633.51

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MARINA FUNICHELLO** – Nascida em Jaboticabal – SP, em 30 de maio de 1981, filha de João Alberto Funichello e Ana Lucia Sampaio Funichello, é Engenheira Agrônoma formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP/Jaboticabal – SP), no ano de 2006. Em fevereiro de 2010 concluiu o curso de Mestrado em Agronomia – Área de Concentração em Entomologia Agrícola na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP/Jaboticabal – SP), sendo bolsista do CNPq. Em março de 2010, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia – Área de Concentração em Entomologia Agrícola na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP/Jaboticabal – SP), sendo bolsista do CNPq.

## **Dedico**

Aos meus pais João Alberto Funichello (*in memoriam*), e Ana Lucia Sampaio Funichello pelo incentivo, carinho e amor incondicional.

## **Homenageio**

Às minhas irmãs Camila Funichello e Natalia Sampaio Franco pela convivência e amizade.

## **Ofereço**

À minha avó paterna Genoveva Volpe Funichello, um exemplo de coragem e luta.

### **Agradecimento especial....**

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli, pela orientação, amizade, pelos conhecimentos fornecidos e importante colaboração na condução, desenvolvimento e finalização deste trabalho dispensados durante todo o tempo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela proteção e por iluminar meu caminho para a realização deste trabalho.

Aos meus familiares, por me ensinarem o que é amor, respeito, compreensão e tolerância.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, através do Departamento de Fitossanidade e do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela oportunidade concedida para a realização do curso de doutorado.

Aos professores do curso de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao técnico Agrícola Alex Ribeiro, pela amizade e auxílio na preparação e implantação deste experimento.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Fitossanidade José Altamiro de Souza, Lígia Dias Tostes Fiorezzi, Lúcia Helena P. Tarina e Zulene Ribeiro.

Aos queridos amigos e irmãos de laboratório Leandro Aparecido de Souza, José Fernando Jurca Grigolli, Jacob Crosariol Netto, Roseli Pessoa, Diego Olympio Peixoto Lopes, Oniel Jeremías Aguirre Gil, Fabricio Iglesias, Daniela Viana, Letícia Serpa e João Rafael Alencar pela amizade, respeito e compromisso durante esses anos de convivência.

Principalmente ao amigo Diego Felisbino Fraga, pela amizade, companheirismo, e disposição em sempre ajudar, o que foi essencial para a finalização deste trabalho.

Aos amigos do curso de Pós-graduação (Entomologia Agrícola), Marília Lara Peixoto, Jaqueline Midori Maeda, Luan Odorizzi dos Santos, Julio Cesar Janini, Anderson Gonçalves da Silva, Daline Bottega, Nara Rodrigues, Mirian Kubota, Marina Viana, pela amizade, companheirismo em atividades inerentes ao curso ou não.

Aos amigos Bruno Henrique Sardinha de Souza e Felipe Pavani, pela amizade e por todos os momentos de companheirismo que passamos juntos.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

|   | Página |
|---|--------|
| <b>SUMÁRIO</b> .....  | i      |
| <b>RESUMO</b> .....   | iii    |
| <b>SUMMARY</b> .....  | iv     |
| <b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b>  |        |
| 1. Introdução.....  | 01     |
| 2. Revisão de literatura.....   | 03     |
| 2.1 A Cultura do Algodoeiro.....  | 03     |
| 2.2 <i>Pseudoplusia includens</i> (Walker, 1857) (Lepidoptera:<br>Noctuidae).....   | 04     |
| 2.3 Algodão transgênico.....  | 06     |
| 3. Referências.....   | 11     |
| <b>CAPÍTULO 2 – EFEITO DA CULTIVAR NUOPAL (BOLLGARD I) SOBRE O<br/>DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE <i>Pseudoplusia includens</i><br/>(WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)</b> |        |
| Resumo.....   | 18     |
| 1. Introdução.....  | 19     |
| 2. Material e Métodos.....  | 20     |
| 2.1 Criação de manutenção <i>P. includens</i> .....   | 21     |
| 2.2 Bioensaio I: Aspectos biológicos de <i>P. includens</i> em quatro cultivares<br>de algodoeiro.....  | 22     |
| 2.3 Bioensaio II: Efeito da cultivar transgênica (Bt) sobre <i>P.</i><br><i>includens</i> .....   | 22     |
| 2.4 Análise estatística.....  | 23     |
| 3. Resultados .....   | 23     |
| 3.1 Efeito da cultivar transgênica (Bt) na biologia de <i>P.</i><br><i>includens</i> .....  | 26     |
| 4. Discussão.....   | 28     |
| 5. Conclusões.....  | 30     |
| 6. Referências.....   | 31     |

**CAPÍTULO 3 – NÃO PREFERÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO DE  
*Pseudoplusia includens* (Walker) POR CULTIVARES BT E NÃO-BT**

|  |    |
|--|----|
| Resumo.....  | 33 |
| 1. Introdução.....   | 34 |
| 2. Material e Métodos.....   | 35 |
| 3.1 Criação de manutenção de <i>P. includens</i> .....                                 | 36 |
| 3.2 Teste de não-preferência para alimentação de lagartas de <i>P. includens</i> ..... | 37 |
| 3. Resultados e Discussão.....   | 38 |
| 4. Conclusões.....   | 41 |
| 5. Referências.....  | 42 |

**CAPÍTULO 4 – DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE LAGARTAS DE  
*Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA:  
NOCTUIDAE) EM CULTIVAR CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA DE  
ALGODOEIRO**

|  |           |
|--|-----------|
| Resumo.....  | 44        |
| 1. Introdução.....   | 45        |
| 2. Material e Métodos.....   | 47        |
| 3. Resultados e Discussão.....                                       | 48        |
| 4. Conclusões.....   | 51        |
| 5. Referências.....  | 52        |
| <b>CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS (IMPLICAÇÕES PRÁTICAS).....</b> | <b>54</b> |
| Referências.....   | 57        |

;

## **ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares convencionais e transgênicas de algodoeiro**

**RESUMO** – A cultura no algodoeiro abriga uma grande quantidade de insetos que podem causar danos a sua produção. A lagarta *Pseudoplusia includens* (Walker) mais encontrada na soja, tem se destacado atualmente na região Centro-Oeste do Brasil, devido aos novos sistemas de cultivos sucessivos, soja-algodão. Um dos principais avanços tecnológicos é a disponibilidade de cultivares transgênicas, resistentes para algumas espécies desfolhadoras de insetos-pragas, porém, algumas espécies, consideradas alvo da tecnologia, tem sobrevivido e preocupado produtores. Este trabalho teve como objetivo avaliar os principais aspectos biológicos de *P. includens* alimentadas com folhas de quatro cultivares de algodoeiro, bem como estudar o efeito da cultivar transgênica NuOPAL, sobre o comportamento, sobrevivência e desenvolvimento do inseto. Além disso, avaliou-se o consumo foliar de lagartas e a atratividade a estas cultivares. Avaliou-se também a distribuição vertical de lagartas de *P. includens* na cultivar transgênica WideStrike e na sua isolinha comercial FM 993. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (cultivares DeltaOPAL, NuOPAL, FM 993 e FM 910), com 30 ou 60 repetições, conforme o experimento. No ensaio de não preferência para alimentação de lagartas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições, com as mesma cultivares. Para a distribuição vertical de lagartas nas plantas das cultivares FM 993 e FM 975 WS foi utilizado delineamento em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, com 06 tratamentos (3 terços da planta x 2 faces foliares), e 40 repetições. Os dados obtidos foram transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$  e submetidos a Análise de Variância para cada cultivar e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A cultivar Bt (Bollgard I) exerce o tipo de resistência por antibiose para metade da população larval, prolonga a fase larval das sobreviventes; reduz o peso de lagartas e pupas, e proporciona significativamente maior duração do período de larva-adulto. No teste de não- preferência para alimentação de *P. includens*, todas as cultivares foram preferidas para alimentação das lagartas, inclusive a cultivar NuOPAL, que expressa a proteína inseticida Cry1Ac, não apresentando resistência às lagartas de 3<sup>o</sup> instar. Em relação a distribuição vertical das lagartas, independente de seu tamanho e da cultivar, foram mais encontradas nos terços inferior e mediano do dossel das plantas e na face abaxial das folhas. A cultivar FM 975 (WideStrike) que expressa as proteínas tóxicas Cry1F e Cry1Ac, foi altamente eficiente na redução da população de lagartas em condições de campo, quando comparada à sua isolinha comercial não transgênica FM 993.

**Palavras-chave:** algodão Bt, *Gossypium hirsutum*, lagarta-mede-palmo da soja, plantas transgênicas

## ASPECTS BIOECOLOGY OF *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ON CONVENTIONAL AND TRANSGENIC COTTON CULTIVARS

**SUMMARY** – The cotton crop has a large number of insects that can damage the production. The caterpillar *Pseudoplusia includens* (Walker) most commonly found in soybean, has been highlighted today in the Midwest region of Brazil, due to new systems of crop rotation, soybean-cotton. One of the major technological advances is the availability of transgenic cultivars resistant to some species of defoliating insect pests, but some species considered target technology, has survived and concerned farmers. This study aimed to evaluate the main biological aspects *P. includens* feed by leaves of four cotton cultivars, as well as studying the effect of transgenic NUOPAL cultivar, on behavior, survival and development of the insect. Furthermore, were evaluated the attractiveness and foliar consumption by larvae to the cultivars. Another objective was to evaluate the vertical distribution of larvae of *P. includens* in transgenic cultivar WideStrike and its isoline commercial FM 993. Were used a completely randomized design, using treatments with cultivars DeltaOPAL, NUOPAL, FM 993 and FM 910, with 60 replicates for the antibiosis experiment. In the test of non-preference for feeding caterpillars, was used completely randomized design with 10 replicate with the same cultivars. For the vertical distribution was used as a randomized block design in a split-plot, with 06 treatments (3 parts of plants x 2 leaf surface), and 40 replicate. The data were transformed into  $(x + 0.5)^{1/2}$  and subjected to analysis of variance and treatments means were compared by Tukey test at 5% probability. The Bt cultivar Bt (Bollgard I) exerts the sort of antibiosis to half of the larval population, extending the larval stage of the survivors. It also reduces the larvae and pupae weight, and provides significantly greater duration period of larval-adult. In testing the non-feeding preference of *P. includens*, all cultivars were preferred for feeding caterpillars, including the cultivar NUOPAL, which expresses the Cry1Ac toxic protein and showed no resistance to the 3rd larvae instar. Regarding the vertical distribution caterpillars, regardless of size and cultivar, it was found more in lower and middle canopy position of the plants and on the abaxial leaf. The cultivar FM 975 (WideStrike) which expresses the toxic protein Cry1F, and Cry1Ac, was highly effective in reducing the population of larvae under field conditions compared to its isoline commercial FM 993.

**Key Words:** Bt cotton, *Gossypium hirsutum*, soybean looper; transgenic plants

## CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

A cotonicultura é uma atividade de relevante importância social e econômica no cenário agrícola brasileiro. Esse destaque se dá não só pela produção de fibras empregadas na indústria têxtil, mas também pela utilização de sua semente na fabricação de óleo para alimentação humana, para tintas, e pelo farelo do algodão, utilizado na alimentação animal (SANCHES; MALERBO-SOUZA, 2004).

As mudanças recentes ocorridas na cotonicultura brasileira acarretaram intenso processo de reestruturação produtiva no setor, cuja face mais aparente foi a transferência geográfica da produção, das regiões tradicionais de São Paulo, Paraná e Estado do Nordeste, para as novas regiões produtoras no cerrado brasileiro (FERREIRA FILHO, 2007). Na última década esta mudança permitiu a retomada no crescimento da área cultivada e a substituição de um modelo produtivo dependente de mão-de-obra, com baixa produtividade, por um modelo agrícola empresarial de melhor desempenho, em virtude da introdução de cultivares mais produtivas e arquitetura de plantas mais propícia à mecanização total da cultura (BRASIL, 2007).

A área plantada com algodão neste último levantamento da safra 2011/12 ficou definida em 1.393,4 mil hectares, ou seja, 0,5% inferior à área cultivada na safra anterior. Quanto à produção de algodão em pluma, os números finais representam que em relação à safra 2010/11, ela será inferior em 3,9%, devendo totalizar cerca de 1.883,8 mil toneladas (CONAB, 2012).

As plantas de algodoeiro podem ser danificadas em todas as fases de seu desenvolvimento por diversos insetos, que atacam diferentes partes das plantas, como raiz, caule, folhas, botões florais, flores, maçãs e capulhos (BUSOLI et al., 2011).

Nos últimos anos, a lagarta *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) de maior ocorrência na cultura da soja, destacando-se como uma praga de grande importância na cultura do algodoeiro, provocando grandes prejuízos, principalmente na região centro-oeste, onde os produtores

constatarem no algodoeiro uma grande alternativa para rotação com a cultura da soja precoce de primavera-verão (BUSOLI et al., 2011).

Pesquisas em biotecnologia levaram a obtenção de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas tóxicas, entre as quais, Cry1Ac, oriunda da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (BRITO, 2000; BOBROWSKI et al., 2003). Por meio desta tecnologia, foi obtido o algodão geneticamente modificado, denominado Bollgard I, cujas plantas produzem a  $\alpha$ -endotoxina de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, que é patogênica para a maioria das lagartas de lepidópteros (RAMIRO; FARIA, 2006).

No entanto, Polanía et al. (2008) avaliaram a suscetibilidade de quatro noctuídeos à toxina Cry1Ac presente em plantas de algodoeiro e observaram que a  $CL_{50}$  necessária para causar mortalidade de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) foi maior que para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *S. sunia* (Guenee), destacando que o efeito da toxina sobre *S. frugiperda* é reduzido, quando comparado a outros lepidópteros. No Brasil, a partir do conhecimento do complexo de pragas que ocorrem na cultura do algodoeiro, observa-se que a especificidade desta toxina não dispensa a utilização do controle químico, principalmente para *P. includens*, objeto de estudos nesta pesquisa.

Para atender esta demanda, foram produzidas novos eventos Bt para o algodoeiro, que atendessem a um maior espectro de lepidópteros pragas da cultura.

Adamczyk e Gore (2004), em ensaio de laboratório e campo, testaram cultivares de algodoeiro que expressavam diferentes proteínas tóxicas como Cry1Ac, Cry1F e ambas proteínas, tecnologia conhecida como Widestrike para *Spodoptera frugiperda* e *S. exíqua*. Os autores verificaram que cultivares que continham somente Cry1F foram mais eficientes que as cultivares que expressavam Cry1Ac e Cry1Ac mais Cry1F.

Portanto o presente trabalho teve como objetivos, avaliar o efeito de cultivares não-Bt e da cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) (Cry1Ac) sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *P. includens* em algodoeiro (antibiose), a não-preferência para alimentação nestas cultivares, além de determinar a distribuição vertical ou intra-planta de lagartas pequenas, médias e grandes de *P. includens* nas

superfícies foliares adaxial e/ou abaxial da cultivar FM 975 WS, com expressão simultânea das proteínas Cry1Ac e Cry1F (WideStrike), comparada com a sua isolinha convencional.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do algodoeiro

O algodoeiro pertencente ao gênero *Gossypium*, da família Malvaceae, e contém mais de 50 espécies distribuídas nos continentes Asiático, Africano, Americano e Oceania. O Brasil ocupa, atualmente, a sétima posição no ranking mundial, com uma área plantada de 1398,1 mil hectares e produtividade de 3.793 kg/ha (CONAB, 2012).

A espécie *Gossypium hirsutum* L. é cultivada desde 4.000 e 2.500 a.C. na Índia e no norte do Peru, respectivamente. O algodoeiro teve origem na Índia e expandiu-se para o Paquistão, Tailândia, China, Irã, Síria, Turquia e Grécia. Nos séculos IX e X, os conquistadores árabes disseminaram o algodoeiro pelas regiões mediterrâneas. Presume-se que no continente americano, o algodoeiro seja originário da América Central, possivelmente nas regiões que abrangem México e Guatemala, sendo posteriormente propagado para Nicarágua, Colômbia, Brasil e Argentina (CARVALHO, 1996).

A cotonicultura é uma atividade relevante, tanto pelo ponto de vista econômico quanto social. A planta de algodoeiro é resistente à seca e por isso representa uma opção de cultivo em regiões semiáridas, em geral deprimidas e sem muitas alternativas para reter a população no meio rural e gerar emprego e renda (BRASIL, 2007).

A cultura do algodoeiro é também explorada comercialmente em países subtropicais, acima da latitude de 30°N, e mais de dois terços da produção mundial provêm de locais ao norte da latitude 30°N, onde se localizam os dois maiores produtores: Estados Unidos e China (BELTRÃO; SOUZA, 2007).

No entanto algumas espécies de insetos que ocorrem na cultura do algodoeiro podem ocasionar prejuízos econômicos se não forem adotadas algumas medidas de controle. Dentre os insetos-pragas que podem causar dano econômico, pode-se mencionar as brocas [*Eutinobothrus brasiliensis* (Hambledon, 1937) e *Conotrachellus denieri* Hustache, 1939], os pulgões [*Aphis gossypii* Glover, 1877 e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776)], o tripses (*Frankliniella* spp.), o curuquerê [*Alabama argillacea* (Hubner, 1818)], o bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843), a lagarta-das-maçãs [*Heliothis virescens* (Fabricius, 1781)], as lagartas do gênero *Spodoptera* [*S. frugiperda* e *S. cosmioides* Walker, 1858], a lagarta rosada [*Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843)], os ácaros [*Tetranychus urticae* (Koch, 1836) e *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904)], os percevejos [*Horcias nobilellus* (Bergman, 1833) e *Dysdercus* spp.] e a mosca-branca [*Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889)] (JACOME et al., 2003).

Na última década, a cultura do algodoeiro apresentou significativas alterações em seus índices de produtividade e distribuição geográfica, migrando de áreas tradicionalmente produtoras para o cerrado brasileiro, basicamente a região Centro-Oeste (CONAB, 2011). Com as condições de clima favorável, apresentando estação seca e chuvosa bem definida, luminosidade uniforme, fizeram com que o algodoeiro se tornasse uma oportunidade de negócios, além disso, era uma alternativa para rotação desta cultura com outras culturas economicamente importantes, como a soja (FONTES et al., 2006).

No entanto, a lagarta falsa-medideira *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) de maior ocorrência na soja até a década passada, tem causado danos econômicos consideráveis na cultura do algodoeiro nos últimos anos (BUSOLI et al., 2011).

## **2.2 *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae)**

*Pseudoplusia includens* é uma espécie com ampla distribuição geográfica, e ocorre do extremo norte dos Estados Unidos da América (EUA) até o extremo sul da América do Sul (ALFORD; HAMMOND JR., 1982).

As lagartas se alimentam de folhas localizadas no terço inferior das plantas, logo nos primeiros instares, selecionam as folhas mais tenras, se alimentam daquelas com pequena quantidade de fibra, tornando-se menos exigentes à medida que vão se desenvolvendo. Após o terceiro instar, consomem grandes áreas foliares, mantendo, porém, íntegras as nervuras principais, o que confere um aspecto rendilhado às folhas atacadas (HERZOG, 1980; BUENO et al. 2009).

As lagartas apresentam coloração verde-clara com algumas linhas longitudinais esbranquiçadas no dorso podem apresentar alguns pontos escuros em seu tegumento. A tonalidade da cor das lagartas pode variar dependendo da dieta consumida e fatores genéticos (SALA; SANTIAGO, 2009). Apresentam 2 pares de pernas abdominais, característica que faz com que a lagarta se desloque arqueando o corpo, movimento comumente chamado de “mede-palmo” (GAZZONI; YORINORI, 1995).

O início para a transformação em pré-pupa é caracterizado por uma acentuada mudança de coloração. No entanto, esta transformação em pré-pupa envolve alterações no sistema hormonal, envolvendo: parada na alimentação, mudança para coloração verde amarelada uniforme, liberação do último “pellet” fecal de coloração amarelo brilhante, início da construção do casulo, perda de mobilidade e transformação em pupa (VÁZQUEZ, 1986).

Os adultos são mariposas com cerca de 35 mm de envergadura com as asas superiores de coloração cinza-escura, apresentando um pequeno desenho prateado no centro, em forma de “U”. Os ovos são colocados isoladamente na face inferior das folhas e nos ponteiros, apresentando a coloração branca (FUNICHELLO; GRIGOLLI; BUSOLI, 2011).

A longevidade dos pode variar de 9,8 até 18,2 dias (MASON; MACK, 1984). O número total médio de ovos pode variar de 144 a 195,3 ovos, sendo que 80 a 90% do total de ovos são colocados até o sétimo dia (VÁZQUEZ, 1986).

Em estudos realizados no Brasil por Bueno et al. (2009) foi observado que o ovo de *P. includens* é depositado de forma isolada, com diâmetro de 0,52 mm a 0,53 mm, de cor amarela brilhante com 31 a 33 costas radiais e distintas costas transversais, sendo que a dieta pode alterar a coloração dos ovos, em criação massal. Não existem sinais de desenvolvimento embrionário até, aproximadamente,

36 h após a oviposição. O período de incubação, a 25° C, dura cerca de três dias. A viabilidade dos ovos pode variar de 39,7 a 100%, sendo essas variações, relacionadas principalmente às metodologias utilizadas na pesquisa (YOUNG; YEARIAN, 1982; MITCHEL, 1967; BEACH; TODD, 1985).

Em trabalhos realizados na Geórgia, EUA, *P. includens* apresentou duração do período de desenvolvimento larva-adulto de 26,5 e 31,7 dias, quando alimentadas com folhas de soja e algodoeiro, respectivamente. A maior duração do desenvolvimento em folhas de algodoeiro foi atribuída à presença de gossipol nas folhas da planta (MITCHEL, 1967).

### **2.3 Algodão transgênico**

De modo geral, o controle da lagarta-medede-palmo da soja é realizado por meio de aplicação de inseticidas. A utilização de plantas transgênicas com resistência a insetos pode reduzir a necessidade de aplicação desses agrotóxicos, com conseqüente redução dos custos de produção (BESPALHOK FILHO; GUERRA; OLIVEIRA, 2012).

A resistência de plantas de algodoeiro ao ataque de insetos consiste na habilidade de certas cultivares produzirem algodão em maior quantidade e melhor qualidade, sob o ataque de pragas (LARA, 1991). Sendo assim, esta prática consiste em uma das principais ferramentas para o sucesso de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), e a obtenção de plantas transgênicas têm se tornado uma das alternativas mais aceitáveis, devido aos benefícios oriundos desta prática (PARRA et al., 2002).

Pesquisas em biotecnologia levaram à obtenção de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas tóxicas, entre elas, Cry1Ac, oriunda da bactéria de solo *B. thuringiensis* (BRITO, 2000; BOBROWSKI et al., 2003). Estas plantas modificadas geneticamente podem controlar algumas das pragas mais importantes de várias culturas e reduzir a aplicação de inseticidas sintéticos. Através desta tecnologia, foi obtido o algodão geneticamente modificado, denominado Bollgard I, que produz em suas células, a  $\alpha$ -endotoxina de *B. thuringiensis* var.

kurstaki, que é altamente patogênica para algumas lagartas de lepidópteros (RAMIRO; FARIA, 2006).

As pesquisas com algodão transgênico iniciaram-se em 1986 nos Estados Unidos, sendo que as primeiras plantas geneticamente modificadas foram obtidas em 1989. Naquele país, a liberação para comercialização da primeira cultivar transgênica só ocorreu em 1996. No Brasil, a liberação comercial da cultivar Bollgard I<sup>®</sup> da Monsanto Brasil Ltda., denominada de NuOPAL, que expressa a proteína Cry1Ac, só ocorreu em março de 2005 de acordo com o Parecer Técnico Conclusivo, CTNBIO N<sup>o</sup> 513/2005 (BARROSO et al., 2005).

Essas plantas geneticamente modificadas estão sendo utilizadas como tática de controle de pragas em vários países, e de acordo com Roush (1997); Gould (1998); Ferreira et al. (2007), a tecnologia do algodão Bollgard (MON 531) representa um novo conceito de controle de pragas, contribuindo para redução no uso de inseticidas não-seletivos para pragas-chave da cultura do algodoeiro, bem como diminuir os riscos de resistência de insetos aos produtos químicos, proporcionando benefícios significativos aos agricultores, ao meio ambiente e para a sociedade em geral.

Nos Estados Unidos, geralmente, são realizadas de 5 a 12 aplicações de inseticidas no decorrer da safra em algodão convencional, e com o uso de algodão transgênico o número de aplicações reduziu para 1 a 3 aplicações (DAVIS et al., 1995; BACHELER; MOTT; MORRISON, 1997). Carlson; Marra; Hubbell (1998) verificou que algumas regiões produtoras de algodão nos Estados Unidos que adotaram as cultivares transgênicas, obtiveram aumentos de produtividade da ordem de 11,4% em relação às cultivares convencionais, com redução de 72% no consumo de inseticidas comparado às áreas de plantios convencionais.

Em outros países também houve redução do uso de inseticidas com a adoção de cultivares transgênicas. Na Índia foi de 70%, na Austrália de 85% e na China de 60 a 80%, além disso, foi demonstrado que em função do menor uso de inseticidas houve uma diminuição significativa no número de intoxicações de agricultores (CHRISTOU et al., 2006; DOWNES; MAHON; OLSEN, 2007).

Com relação ao algodão brasileiro, Santos (2002) e Ramiro; Santos; Montezuma (2002), relataram que esta tecnologia controlou as infestações de *A.*

*argillacea*, *H. virescens* e *P. gossypiella*, enquanto que na cultivar convencional houve 3 a 4 aplicações de inseticidas para o controle destas pragas. Desta maneira os resultados indicam a potencialidade de redução do uso de inseticidas, para o controle destes lepidópteros-praga. Entretanto, em trabalho realizado por Ferreira Filho et al. (2003), os pesquisadores verificaram uma grande variação na redução potencial de custos com o uso de variedades transgênicas, dependendo principalmente do espectro de pragas presentes em cada região.

Em trabalho realizado por Costa et al. (2011) foi observada redução significativa do número de lagartas de *A. argillacea* em plantas da cultivar NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) de algodoeiro, comparada à sua isolinha DeltaOPAL.

Lima e Torres (2011) ao avaliarem o efeito da produção da toxina Cry1Ac sobre a preferência de alimentação e oviposição de *A. argillacea*, notaram que a ação da toxina influencia apenas a preferência de alimentação das lagartas, não interferindo na preferência por oviposição pelos adultos.

Em relação à *H. virescens*, Tomquelski (2009) analisou o custo de produção de algodoeiro Bt e convencional, comparando tratamentos em que eram realizadas, ou não, aplicações de inseticidas em áreas Bt e não Bt. O autor verificou que a infestação das plantas transgênicas por *H. virescens* pulverizadas ou não com inseticidas não foi alterada, destacando o controle efetivo da toxina na manutenção baixa da população da praga. Busoli et al. (2007), em um estudo com sete cultivares de algodoeiro, observaram que o número de maçãs atacadas por *P. gossypiella* foi menor na cultivar transgênica NuOPAL.

Apesar do efetivo controle que o algodão Bollgard I<sup>®</sup> possui sobre as pragas anteriormente citadas, é importante a realização de estudos que avaliem o efeito sobre os organismos não-alvos. Busoli et al. (2007), avaliaram o efeito de plantas transgênicas sobre pragas não-alvo, como o bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis*), considerado a principal praga da cultura no País. Os autores observaram que não houve variação significativa entre as cultivares pesquisadas (Bt e não-Bt).

Polanía et al. (2008) avaliaram a suscetibilidade de quatro noctuídeos à toxina Cry1Ac produzida em plantas de algodoeiro da cultivar NuOPAL e observaram que a CL<sub>50</sub> necessária encontrada para *H. zea*, foi maior que para *S. frugiperda* e *S. sunia*,

destacando que o efeito da toxina sobre *S. frugiperda* é reduzido, quando comparado à outros lepidópteros.

Santos e Torres (2010) avaliaram a eficácia do algodão Bt (DeltaPine Acala 90B) no controle de *S. frugiperda* e *A. argillacea*, e concluíram que a proteína Cry1Ac não possui ação supressiva sobre *S. frugiperda*, porém foi eficaz no controle de *A. argillacea*.

Sendo assim, a partir do conhecimento do complexo de pragas que ocorrem na cultura do algodoeiro, observa-se que a especificidade desta toxina não dispensa a utilização do controle químico, pois para algumas espécies de lepidópteros, a eficiência de controle de lagartas é muito variável.

Para atender esta demanda, foram produzidos os eventos com proteínas Cry para o algodoeiro, que atendessem a um maior espectro de pragas da cultura.

A partir do algodão Bollgard<sup>®</sup> foi obtido o algodão Bollgard II<sup>®</sup> (Evento 1598), mediante a introdução do gene Cry2Ab de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Portanto, Bollgard II<sup>®</sup> expressa as delta-endotoxinas Cry1Ac e Cry2Ab que são altamente específicas e tóxicas às lagartas de alguns lepidópteros, incluindo *S. frugiperda* e outras espécies do gênero *Spodoptera* (LUTTRELL; WAN; KNIGHTEN, 1999; STEWART et al., 2001; CHITKOWSKI et al., 2003; SIVASUPRAMANIAM et al., 2008).

Em experimentos realizados por Allen et al. (2000) verificam que *S. exigua* e *H. virescens* não causaram danos em plantas de algodoeiro Bollgard II<sup>®</sup>. Avaliaram, ainda, os efeitos da planta transgênica sobre *P. includens* e *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) e observaram que apesar de encontrarem lagartas nas plantas transgênicas, não foi constatado dano nas folhas.

Em relação à *T. ni*, outro lepidóptero de grande importância na cultura do algodoeiro, Li; Greenberg; Liu (2005) observaram os efeitos da expressão das toxinas Cry1Ac e Cry2Ab no seu comportamento, sobrevivência e desenvolvimento. Verificou-se que em condições de campo, a porcentagem de lagartas presentes em folhas Bt foi significativamente menor do que em plantas não-Bt, bem como o número de folhas atacadas e área consumida.

Em 2006, foi liberado pela CTNBio o evento WideStrike que produz as endotoxinas Cry1F e Cry1Ac de *B. thuringiensis* é tido como eficaz para *H. virescens*

e *H. zea* (JACKSON et al., 2006; LORENZ et al., 2006), além disso mostrou-se eficiente também para *S. frugiperda* (TINDALL; LEONARD, EMFINGER, 2006). Em trabalho realizado no mesmo ano por Santos et al. (2009) foi observado que o número médio de lagartas de *A. argillacea* não diferiu do testemunha+controle com inseticida. No entanto, ao avaliar a porcentagem média de desfolha, os autores observaram que as plantas transgênicas foram menos atacadas que a testemunha, mesmo esta acompanhada de controle. Os autores ainda observaram resultados semelhantes para a lagarta das maçãs, *H. virescens*, demonstrando um controle positivo das plantas transgênicas sobre estas pragas.

No Brasil, a cultura do algodoeiro nas regiões Centro Oeste e Oeste da Bahia, é atacada por diversas lagartas de lepidópteros que atacam também o milho e a soja. Devido às cultivares mais precoces de soja, cultivadas nestas regiões a partir de novembro (primavera) e colheita em fevereiro (verão), e plantio de algodoeiro em janeiro/fevereiro (verão), várias espécies de lagartas da soja, especialmente *P. includens* atacam a fase de desenvolvimento das plantas de algodoeiro e com isto, necessitando de várias pulverizações de inseticidas, mesmo nas cultivares transgênicas que expressam somente a proteína Cry1Ac (NuOPAL).

Para conhecer melhor o comportamento de alimentação e sobrevivência desta praga em novas cultivares Bt, que expressam as toxinas Cry1Ac e Cry1F, ou que expressam ambas toxinas (WideStrike), foram realizados vários experimentos em laboratório e campo, na FCAV/UNESP e em área comercial da região de Chapadão do Sul, MS.

### 3. REFERÊNCIAS

ADAMCZYK JR., J. J., GORE, J. Laboratory and field performance of cotton containing CRY1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (WideStrike) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.87, n. 4, p.427-432, 2004.

ALFORD, A. R.; HAMMOND JUNIOR, A. N. Plusinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with looplure-baited traps. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.17, n.4, p.647-650, 1982.

ALLEN, C. T.; KHARBOUTLI, M. S.; CAPPS, C.; EARNEST, L. D. Effectiveness of Bollgard II cotton varieties against foliage and fruit feeding caterpillars in Arkansas. **Proceedings...** 2000. 4 p.

BACHELER, J. S., MOTT, D. W; MORRISON, D. E. Efficacy of grower-managed Bt cotton in North Carolina. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 1997, Memphis. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 1997. p. 858 – 861.

BARROSO, P. A. V.; FREIRE, E. C.; AMARAL, J. A. B.; SILVA, M. T. **Zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. Comunicado Técnico.

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.

BELTRÃO, N. E. M.; SOUZA, J. G. Fisiologia e Ecofisiologia do algodoeiro. In: FONTOURA, J. U. G.; FREIRE, E. C. **Algodão: tecnologia de produção**, Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. v. 1, p. 54-75.

BESPALHOK FILHO, J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. A. **Plantas transgênicas**. UFPR, 2012. Disponível em: <<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%20transgenicos.pdf>>. Acessado em: 15 de maio de 2012.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia Produtiva do Algodão**. BUAINAIN, M.; BATALHA, M. A. Brasília: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, 2007.

BRITO, L. O. **Adaptação de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) a inibidores de proteinases de plantas transgênicas de fumo**. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.38. n.3, p. 389-394, 2009.

BUSOLI, A. C.; SILVA, E. A.; PARASI, H. A. M.; MICHELOTTO, M. D. Infestação de *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) e *Pectinophora gossypiella* Saunders, 1843 (Lepidoptera: Gelechidae) na cultivar NuOPAL (Bollgard I), comparada a cultivares comerciais de algodoeiro. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 6, 2007, Uberlândia. **Anais...CD-ROM**.

BUSOLI AC, GROGOLLI JFJ, FRAGA DF, SOUZA LA, FUNICHELLO M, NAIS J, SILVA E A (2011). **Atualidades no MIP algodão no cerrado brasileiro**. In: Tópicos em Entomologia Agrícola IV. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress Ltda. 4: 117-138.

CARLSON, G. A.; MARRA, M. C.; HUBBELL, B. J. Yield, insecticide use, and profit changes from adoption of bt cotton in the southeast. In: BELTWISE COTTON CONFERENCES, Memphis, 1998. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 1998. p. 973 - 974.

CARVALHO, P. P. **Manual do algodoeiro**. Lisboa: Instituto de Investigações Científica Tropical, 1996. 282p.

CHITKOWSKI, R. L.; TURNIPSEED, S. G.; SULLIVAN, M. J.; BRIDGES JR., W. C. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Berliner proteins for management of noctuid (Lepidoptera) pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.96, n.3., p.755-762., 2003.

CONAB. Companhia de Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, set/2011. 41 p.

COSTA, L. L.; MARTINS, B. C.; FUNICHELLO, M.; BUSOLI, A. C. Dinâmica populacional de ovos e lagartas e parasitismo de ovos de curuquerê-do-algodoeiro por *Trichogramma pretiosum* em cultivares convencionais e transgênica de algodoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.6, p.939-947, 2011.

CHRISTOU, P.; CAPELL, T.; COOLÍ, A.; GATEHOUSE, J. A.; GATEHOUSE, A. M. Recent developments and future prospects in insect pest control in transgenic crops. **Trends in Plant Scienci**, v. 11, p. 302-308, 2006.

DAVIS, M. K.; LAYTON, M. B.; VARNER, J. D.; LITTLE, G. Field evaluation of Bt-transgenic cotton in the Mississippi Delta. In: BELTWISE COTTON CONFERENCES, San Antonio, 1995. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 1995. p. 771 – 775.

DOWNES, S.; MAHON, R.; OLSEN, K. Monitoring and adaptive resistance management in Australia for Bt-cotton: Current status and future challenges. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 95, p. 208-213, 2007.

FERREIRA, F. S.; FUSCOLIM, R.; TORRES, R. G.; DONÁ, C. A.; FREITAS, D. R.; BOSQUEIRO, M. A.; CHAVES, A. A.; CORBO, E.; MARCHIORI JR, O.; BOER, C. A. Algodão Bollgard (Mon 531) no controle dos lepidópteros praga nas principais regiões produtoras do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 6., 2007, Uberlândia. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. CD-ROM

FERREIRA FILHO, J. B. S.; GAMEIRO, A. H.; CENTOLA, F. C. L.; BALLAMINUT, C. E. C. Avaliação econômica do algodão BOLLGARD no Brasil: Atualização para a safra 2002/2003. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., Goiânia , 2003. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. CD-ROM

FREIRE, E. C. Cultivares e produção de sementes na melhoria da qualidade do algodão no nordeste e centro-oeste do Brasil. Boletim Informativo EMBRAPA/CNPA, 1997.

FONTES, E. M. G.; SILVA, F. R.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A. V.; SIMON, M. F.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. The cotton agricultural context in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms**: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. Wallingford: CABI Publishing, 2006. p. 21-66.

FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J. F. J.; BUSOLI, A. C. Distribución vertical de huevos parasitados y no parasitados de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) por *Trichogramma pretiosum* em algodón em Brasil. In: XLVI Congresso Nacional de Entomologia, Cancún, México. **Entomología Mexicana**, Cancún, v. 10. p. 375-378, 2011.

GAZZONI, D. L.; YORINORI, J. T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 128 p. (Manuais de identificação de pragas e doenças, 1).

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integration of pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 701-726, 1998.

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

JACKSON, R. E.; MALONE, S.; BRADLEY, J. R.; VAN DUYN, J.; HERBERT, A.; HUCKABA, R. M. Efficacy of WideStrike and Bollgard II Cottons Against Bollworm under Insecticide-Sprayed and Non-Sprayed Conditions in North Carolina and Virginia. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

JACOME, A. G.; SOARES, J. J.; OLIVEIRA, R. H.; CAMPOS, K. M. F.; MACEDO, E. S.; GONÇALVES, A. C. A. Importância das folhas da haste principal, das folhas do ramo no crescimento e produtividade do algodoeiro herbáceo CNPA 7H. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p209-213, 2003.

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

LI, Y. -X.; GREENBERG, S. M.; LIU, T. -X. Effects of Bt cotton expressing Cry1Ac and Cry2Ab and non-Bt cotton on behavior, survival and development of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, Guildford, v.25, 2005., p. 940-948.

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

LORENZ, G. M.; COLWELL, K.; LASSITER, R.B.; GREENE, J.; STUDEBAKE, G.; HARDKLE, J.; SHELTON, C. Performance of WideStrike Cotton in Arkansas, 2004-2005. In: BELTWISE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

LUTTRELL, R. G.; WAN, L.; KNIGHTEN, K. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.92, n.1, p.21-32. 1999.

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

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

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊAFERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.125-142.

POLANÍA, I. Z.; RODRÍGUEZ, J. A. A.; MALDONADO, H. A. A.; CRUZ, R. M.; BAYONAR, M. A. Susceptibilidad de cuatro nóctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero. **Revista Colombiana de Entomología**, Santafe de Bogotá, v.34, n.1, p. 41-50, 2008.

RAMIRO, Z. A.; SANTOS, W. J.; MONTEZUMA, M. C. Estudo da eficiência do algodão Bollgard para o controle do curuquerê *Alabama argillacea* (HÜBNER, 1818), da lagarta da maçã *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) e da lagarta rosada *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1844). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. **Resumos...** CD-ROM

RAMIRO, Z. A.; DE FARIA, A. M. Levantamento de insetos predadores nos cultivares de algodão Bollgard®DP90 e convencional Delta Pine Acala 90. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n.1, p. 119-121, 2006.

ROUSH, R. T. Bt-transgenic crops: just another pretty insecticide or a chance for a new start in resistance management? **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 51, p. 328-334, 1997.

SALA, M.; SANTIAGO, M. **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes dietas**. 2009. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Faculdade de Educação São Luís, Jaboaticabal, 2009

SANCHES, J. L. B. J.; MALERBO-SOUZA, D. T. Frequência dos insetos na polinização e produção de algodão. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 26, p. 461-465, 2004.

SANTOS, W. J. Estudo da eficiência do algodão Bollgard para o controle do curuquerê (*Alabama argillacea*), lagarta das maçãs (*Heliothis virescens*) e lagarta rosada (*Pectinophora gossypiella*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. **Resumos...CD-ROM**

SANTOS, A. C.; GRAVENA, R.; ROSSETO, J.; PEREIRA, R.; GRAVENA, S.; DI OLIVEIRA, J. R. G. Eficiência de algodão geneticamente modificado expressando as proteínas Cry1F e Cry1Ac no manejo de *Alabama argillacea* Hueb e da *Heliothis virescens* Fabr. Congresso Brasileiro de Algodão, 7, 2009, Foz do Iguaçu. **Anais... CD-ROM**.

SANTOS, R. L., TORRES, J. B. Produção da proteína Cry1Ac em algodão transgênico e controle de lagartas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.4: p.509-517, 2010.

SIVASUPRAMANIAM, S.; MOAR, W. J.; RUSCHKE, L. G.; OSBORN, J. A.; JIANG, C.; SEBAUGH, J. L.; BROWN, G. R.; SHAPPLEY, Z. W.; OPPENHUIZEN, M. E.; MULLINS, J. W.; GREENPLATE, J. T. Toxicity and characterization of cotton expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins for control of lepidopteran pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.101, n.2., p.546-554., 2008.

STEWART, S. D., ADAMCZYK JR., J. J.; KNIGHTEN, K. S.; DAVIS, F. M. Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.94, n.3, p. 752-760, 2001.

TINDALL, K. V.; LEONARD, B. R.; EMFINGER, K. D. Fall Armyworm survivorship and damage in WideStrike Cotton. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência de pragas e custo de produção em algodoeiro geneticamente modificado (Bt) e convencional**. 2009. Tese (Doutorado em Agronomia – Sistemas de Produção). 108f. Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2009.

VÁZQUES, 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 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola superior de Agricultura “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

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.

## **CAPÍTULO 2 – EFEITO DA CULTIVAR NUOPAL (BOLLGARD I<sup>®</sup>) SOBRE O DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**RESUMO** - Dentre os insetos-praga que causam injúrias e danos econômicos à cultura do algodoeiro, a lagarta *Pseudoplusia includens* (Walker) tem se destacado atualmente na região Centro-Oeste do Brasil. Um dos principais avanços tecnológicos é a disponibilidade de cultivares transgênicas, resistentes para algumas espécies desfolhadoras de insetos-pragas, porém, algumas espécies, consideradas alvo da tecnologia, tem sobrevivido e preocupado produtores. O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos biológicos de *P. includens* alimentadas com folhas de quatro cultivares de algodoeiro, bem como estudar o efeito da cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) que expressa a proteína Cry1Ac, sobre o comportamento, sobrevivência e desenvolvimento do inseto (antibiose). Foram realizados dois experimentos, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo o primeiro com as cultivares DeltaOPAL, NuOPAL, FMX 993 e FMX 910 para a alimentação de lagartas do inseto, e outro ensaio, criando as lagartas apenas com a cultivar NuOPAL e sua isolinha convencional DeltaOPAL, com uma população maior de lagartas. As folhas foram oriundas de plantas cultivadas em condições de campo, e utilizadas em placas de Petri onde foram individualizadas lagartas recém-eclodidas, alimentadas diariamente com folhas das respectivas cultivares de algodoeiro. Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração do período, peso e viabilidade da fase de larva, duração do período, peso e viabilidade da fase de pupa, duração e viabilidade do período larva-pupa-adulto, longevidade e razão sexual. A cultivar Bt (Bollgard I) exerce o tipo de resistência por antibiose para metade da população larval, prolongando a fase de larval das sobreviventes, também reduz o peso de lagartas e pupas, e proporciona significativamente maior duração do período de larva-adulto.

**Palavras-chave:** algodão Bt, antibiose, Cry1Ac, *Gossypium hirsutum*, Lagarta-medede-palmo da soja, OGM

## 1. INTRODUÇÃO

O algodão é uma importante *commodity* no cenário agrícola brasileiro pelo volume e valor da produção, possuindo grande importância social em função do número de empregos que gera direta e indiretamente. No entanto, a cultura do algodoeiro pode ser afetada por diversas espécies de insetos-praga, que podem comprometer significativamente a produção (JACOME et al., 2003).

Como alternativa para a rotação com a cultura da soja, os produtores do Centro-Oeste constataram no algodão e no milho grande oportunidade de negócios. No entanto, a lagarta falsa-medideira *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) de maior ocorrência na soja até a década passada, tem causado danos econômicos consideráveis na cultura do algodoeiro nos últimos anos (BUSOLI et al., 2011).

*Pseudoplusia includens* é uma espécie com ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer do extremo norte dos Estados Unidos até o extremo sul da América do Sul (ALFORD e HAMMOND JR., 1982). Este inseto pode se alimentar de diversas espécies de plantas, incluindo algumas de importância agrícola, como soja, algodão, feijão, tabaco, girassol e algumas hortaliças (BUENO et al., 2007). No Brasil, a lagarta falsa-medideira se tornou uma praga chave da cultura da soja nos últimos anos (BUENO et al., 2007), e na cultura do algodoeiro sua incidência nos campos de produção é maior a cada ano.

As lagartas se alimentam de folhas do algodoeiro localizadas no terço inferior das plantas, sendo que, nos primeiros instares, seleciona as folhas mais tenras, se alimentando daquelas com pequena quantidade de fibra, e tornam-se menos exigentes à medida que se desenvolvem. Após o terceiro instar, consomem grandes áreas foliares, mantendo, porém, íntegras as nervuras principais, o que confere um aspecto rendilhado às folhas atacadas (FUNICHELLO et al., 2012).

Entre os principais avanços para o controle de pragas do algodoeiro, pode-se citar a disponibilidade de cultivares geneticamente modificados, com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner. Através desta tecnologia, foi obtido o algodão geneticamente modificado, denominado Bollgard I<sup>®</sup>, cujas plantas produzem a  $\alpha$ -

endotoxina de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, que é altamente patogênica para a maioria das lagartas de lepidópteros (RAMIRO e FARIA, 2006).

Avaliando o efeito de algodão Bt que expressa as proteínas Cry1Ac e Cry2Ab na sobrevivência e desenvolvimento de *Trichoplusia ni* (Hübner), Li; Greenberg; Liu (2005) observaram que as lagartas que se alimentaram de algodão transgênico apresentaram menor sobrevivência, influenciando negativamente seu desenvolvimento.

No entanto, algumas espécies de lagartas de Lepidoptera apresentam baixa suscetibilidade à proteína Cry1Ac, como *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Spodoptera exigua* (Hübner), as quais sofrem relativo controle supressivo por esta proteína em virtude do prolongamento da fase de larva e menor fecundidade (STEWART et al., 2001; ADAMCZYK; GORE, 2004).

Outro fator importante é que de acordo com Maia (2010), um dos principais riscos ambientais associados às culturas transgênicas é a evolução de resistência em pragas alvo. Assim, é recomendado a estratégia denominada área de refúgio, que se refere ao uso de uma cultivar convencional suscetível em pelo menos 20% da área total cultivada com a cultivar que expresse a toxina Bt em alta concentração em todos os tecidos da planta.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos biológicos de *P. includens*, bem como o efeito da cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) (Cry1Ac), sobre o comportamento, e biologia dos insetos (sobrevivência e desenvolvimento), e possível discussão da influência destes resultados na teoria do refúgio para manejo de populações resistentes à tecnologia.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção (FEPP) e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LAMIP), do Departamento de Fitossanidade (FCAV/UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil. A área de pesquisa localizou-se sob latitude 21°14'15" S, longitude 48°17'09" O e 615 m de altitude. Os experimentos foram conduzidos entre novembro de 2010

e outubro de 2011, em uma área de 5.400 m<sup>2</sup> onde foram semeadas as cultivares comerciais de algodoeiro, DeltaOPAL, NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>), FM-910 e FM-993.

O solo da área experimental foi preparado com uma aração e duas gradagens, utilizando-se o adubo de fórmula N-P-K (8-20-20) (400 kg ha<sup>-1</sup>). A semeadura foi realizada manualmente em 19 de novembro de 2010, com uma densidade de 14 sementes/m não tratadas com inseticidas, por metro de linha e espaçamento de 0,9 m entre linhas. A emergência das plantas ocorreu em 27 de novembro de 2010 e, 20 dias após a emergência foi realizado o desbaste, deixando-se uma densidade média de 10 plantas por metro de linha.

Durante o experimento, não houve aplicações de inseticidas, fungicidas ou herbicidas, e o controle de plantas daninhas foi realizado manualmente sempre que necessário.

## **2.1 Criação de manutenção de *P. includens***

Em laboratório climatizado do LAMIP (25<sup>o</sup> ± 1 °C; 70 ± 10% UR e fotofase de 12 horas), a criação de *P. includens* foi iniciada a partir de ovos provenientes de populações mantidas em dietas artificiais. Após a eclosão, as lagartas foram transferidas para recipientes plásticos de 4,5 cm de diâmetro e 5,0 cm de altura com capacidade de 100 mL. Em cada recipiente de criação foram colocados aproximadamente 20 mL de dieta artificial, a qual foi transferida em estado líquido e se solidificou ao fundo do recipiente. A dieta artificial foi preparada à base de feijão branco, levedura de cerveja, germe de trigo e caseína, de acordo com a metodologia de Greene; Leppla; Dickerson (1976). Foram transferidas três lagartas por recipiente, onde permaneceram até se transformarem em pupas.

As pupas foram transferidas para gaiolas, constituídas por tubos de PVC de 20,0 cm de diâmetro por 20,0 cm de altura, cobertas com tecido *voile* e revestidas internamente com papel sulfite a fim de permitir a oviposição pelos adultos. No fundo da gaiola foi colocado um prato plástico de 14,0 cm de diâmetro revestido por papel sulfite de mesmo diâmetro da gaiola. Para a alimentação dos adultos foi oferecida solução de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão, o qual foi trocado diariamente para evitar contaminações por microrganismos.

Os ovos colocados no *voile* e papel sulfite foram retirados, diariamente, e transferidos para recipientes plásticos de 7,0 cm de diâmetro e 5,0 cm de altura com capacidade de 100 mL contendo aproximadamente 27,0 cm<sup>3</sup> da dieta artificial, mantido com uma tampa de plástico até a eclosão das lagartas. Em seguida, estas foram transferidas, com auxílio de um pincel umedecido em água, para os recipientes de criação, previamente descritos.

## **2.2 Bioensaio I: Aspectos biológicos de *P. includens* em quatro cultivares de algodoeiro**

Lagartas recém-eclodidas oriundas da criação de manutenção foram individualizadas em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, onde foram alimentadas diariamente até a fase de pupa com folhas jovens das cultivares DeltaOPAL, NuOPAL, FM 910 e FM 993, cultivadas na área experimental. Para cada tratamento (cultivares) foram utilizadas 30 repetições em delineamento inteiramente casualizado. As condições laboratoriais foram temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Os parâmetros biológicos de *P. includens* avaliados foram duração e viabilidade da fase larval, peso das lagartas aos 12 dias de idade, duração e viabilidade da fase pupal, peso das pupas com 24 horas de idade, longevidade dos adultos sem alimentação, e duração e viabilidade do ciclo larva-pupa-adulto.

## **2.3 Bioensaio II: Efeito da cultivar transgênica (Bt) sobre *P. includens***

Para avaliar o efeito da cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) que expressa a proteína tóxica Cry1Ac, foi realizado em laboratório sob condições controladas de temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado e utilizou-se a cultivar Bt comercial NuOPAL e sua isolinha não-Bt convencional DeltaOPAL, utilizando-se 60 lagartas como repetições.

Lagartas recém-eclodidas, oriundas da criação de manutenção no LAMIP foram individualizadas em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, onde foram alimentadas diariamente com folhas jovens colhidas das duas cultivares de algodoeiro, cultivadas na área experimental citada anteriormente na FEPP.

Os parâmetros biológicos avaliados foram semelhantes ao experimento anterior.

#### **2.4 Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) pelo teste F, e quando significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados de viabilidade (%) das fases larval e pupal e do ciclo larva-pupa-adulto foram transformados em  $\arcseno(x/100)^{1/2}$ , de acordo com procedimentos a ANOVA.

### **3. RESULTADOS**

A duração média do período larval de *P. includens* foi 22,23 dias, significativamente maior na cultivar transgênica NuOPAL e com viabilidade larval menor, de 56%, enquanto que a duração da fase larval nas cultivares não transgênicas, foram significativamente menores, com no mínimo 5 dias a menos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Duração média  $\pm$  EP (dias) e viabilidade média (%) da fase larval e peso médio (mg) de lagartas aos 12 dias de idade, duração média (dias) e viabilidade (%) da fase de pupa e massa média (mg) de pupas com 24 horas de *P. includens* alimentadas com folhas de cultivares Bt e não-Bt de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2011.

| Cultivar  | Fase Larval                            |           |                                   |
|-----------|--|-----------|-----------------------------------|
|           | Duração (dias)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) | Viab. (%) | Peso (mg)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) |
| DeltaOPAL | 17,68 $\pm$ 0,28 b                     | 83 ab     | 0,603 $\pm$ 0,27 bc               |
| NuOPAL    | 22,23 $\pm$ 0,45 a                     | 56 b      | 0,482 $\pm$ 0,26 c                |
| FM 993    | 16,81 $\pm$ 0,28 b                     | 90 a      | 1,599 $\pm$ 0,14 a                |
| FM 910    | 17,39 $\pm$ 0,30 b                     | 80 ab     | 0,906 $\pm$ 0,08 b                |
| Teste F   | 37,51**                                | 3,84**    | 21,26**                           |
| CV (%)    | 9,69                                   | 52,26     | 59,49                             |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

A viabilidade da fase larval foi acima de 80% nas cultivares não-Bt, com a isolinha DeltaOPAL com 83% de sobrevivência, e as cultivares FM 910 e FM 993, respectivamente, com 80 e 90% de sobrevivência das lagartas (Tabela 1). Quanto ao peso médio de lagartas aos 12 dias de idade, a cultivar FM 993 proporcionou maior valor médio (1,599 mg), e as cultivares NuOPAL (0,482 mg) e DeltaOPAL (0,603 mg) menor peso de lagartas (Tabela 2).

**Tabela 2.** Duração média (dias) e viabilidade (%) da fase de pupa e peso médio (mg) de pupas com 24 horas de *P. includens* alimentadas com folhas de cultivares Bt e não-Bt de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2011.

| Cultivar  | Fase Pupal                            |                    |                                   |
|-----------|---------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|
|           | Duração(dias)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) | Viab. (%)          | Peso (mg)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) |
| DeltaOPAL | 7,20 $\pm$ 0,59 b                     | 80                 | 2,228 $\pm$ 0,06 a                |
| NuOPAL    | 8,68 $\pm$ 0,46 a                     | 76                 | 1,921 $\pm$ 0,07 b                |
| FM 993    | 8,48 $\pm$ 0,11 a                     | 95                 | 2,399 $\pm$ 0,05 a                |
| FM 910    | 8,39 $\pm$ 0,17 a                     | 85                 | 2,472 $\pm$ 0,05 a                |
| Teste F   | 20,92**                               | 1,15 <sup>ns</sup> | 8,81*                             |
| CV (%)    | 8,69                                  | 42,33              | 15,46                             |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade

Observando-se os dados da cultivar transgênica NuOPAL e de sua isolinha convencional DeltaOPAL verificou-se que NuOPAL apresentou maior duração média das que sobreviveram em relação à cultivar isolinha DeltaOPAL. Todavia, não apresentou diferenças significativas nos parâmetros viabilidade da fase larval e peso das lagartas aos 12 dias de idade.

Com relação à fase pupal, observou-se que a duração média foi de 7,20 dias, sendo menor na cultivar DeltaOPAL, enquanto que a viabilidade pupal não apresentou diferenças significativas, entre as cultivares, variando de 76% com valores variando de 76% (NuOPAL) a 95% (FM 993). Estes resultados denotam que as lagartas que conseguiram sobreviver na fase larval, passaram a fase pupal sem problemas, sendo que a cultivar Bt NuOPAL, que teve duração média das lagartas significativamente maior, apresentaram significativamente menor sobrevivência larval. Verificou-se também que o peso médio de pupas (1,921 mg) com 24 horas de idade, foi menor na cultivar NuOPAL (Tabela 1). Por estes resultados, verificou-se que a proteína tóxica Cry1Ac afetou o desenvolvimento de *P. includens* na fase larval, causando baixa viabilidade larval, ao contrário quando verificado para *Alabama argillacea*, com 100% de mortalidade (Costa et al., 2011).

A duração do período de larva-pupa-adulto apresentou diferenças significativas nos parâmetros biológicos entre as cultivares, sendo que as lagartas

alimentadas com a cultivar NuOPAL apresentaram significativamente maior duração média (30,05 dias) em relação às lagartas alimentadas com as cultivares FM 993 e FM 910 (25,29 e 26,71 dias, respectivamente). A viabilidade total média do período larva-adulto nas cultivares não apresentaram diferenças significativas entre as cultivares, embora com valores variando de 46% (NuOPAL) a 73% (FMX 993) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Duração média (dias) e viabilidade média (%) do período larva-adulto, longevidade média e razão sexual dos adultos de *P. includens* alimentadas com cultivares Bt e não Bt de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2011.

| Cultivar  | Período Larva-Adulto |                    |             |              |
|-----------|----------------------|--------------------|-------------|--------------|
|           | Duração<br>(dias)    | Viabilidade (%)    | Longevidade | Razão Sexual |
| DeltaOPAL | 27,91±0,19 ab        | 63                 | 2,35 b      | 0,38         |
| NuOPAL    | 30,05±0,44 a         | 46                 | 2,69 b      | 0,41         |
| FM 993    | 25,39±0,51 c         | 73                 | 3,27 a      | 0,56         |
| FM 910    | 26,71±0,58 bc        | 60                 | 3,27 a      | 0,45         |
| Teste F   | 11,37**              | 1,53 <sup>ns</sup> | 10,29**     | -            |
| CV (%)    | 9,46                 | 80,00              | 21,55       | -            |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

As longevidades médias dos adultos de *P. includens* apresentaram diferenças entre as cultivares, sendo que para DeltaOPAL e NuOPAL, foram significativamente menores, com durações médias de 2,35 e 2,69 dias, respectivamente, em relação às cultivares FM 993 e FM 910 (3,27 e 3,27 dias, respectivamente). A razão sexual não foi afetada de forma significativa com as cultivares, com valores variando entre 0,38 (DeltaOPAL) e 0,56 (FM 993) (Tabela 3).

### 3.1 Efeito da cultivar transgênica (Bt) na biologia de *P. includens*

A duração média da fase larval de *P. includens* foi maior na cultivar transgênica NuOPAL (24,92 dias), diferindo significativamente da sua isolinha convencional DeltaOPAL (18,38 dias) (Tabela 4). Quanto ao peso médio de lagartas

aos 12 dias de idade, a cultivar DeltaOPAL proporcionou maior valor (0,873 mg), enquanto a cultivar Bt NuOPAL apresentou o menor valor (0,345 mg) (Tabela 4). A viabilidade média da fase larval também foi influenciada negativamente pela cultivar transgênica, reduzindo significativamente os valores de 91% na cultivar DeltaOPAL para 66% na cultivar NuOPAL (Tabela 4), confirmando os resultados encontrados no ensaio anterior utilizando-se quatro cultivares.

**Tabela 4.** Duração média (dias) e viabilidade média (%) da fase larval, massa média (mg) de lagartas, duração média (dias) e viabilidade média (%) da fase de pupa e massa (mg) de pupas, de *P. includens* alimentadas em cultivares Bt e não-Bt de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2011.

| Cultivar  | Fase Larval                            |           |                                   | Fase Pupal         |                    |                                   |
|-----------|--|-----------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|
|           | Duração (dias)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) | Viab. (%) | Peso (mg)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) | Duração (dias)     | Viab. (%)          | Peso (mg)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) |
| DeltaOPAL | 18,38±0,25 b                           | 91 a      | 0,873±0,05 a                      | 7,03               | 100                | 2,413±0,03 a                      |
| NuOPAL    | 24,92 ±0,65a                           | 66 b      | 0,345±0,03 b                      | 6,83               | 97                 | 2,101±0,06 b                      |
| Teste F   | 81,23**                                | 12,34**   | 46,47**                           | 1,96 <sup>ns</sup> | 1,40 <sup>ns</sup> | 13,61**                           |
| CV (%)    | 16,93                                  | 49,22     | 57,92                             | 10,15              | 10,29              | 17,14                             |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

Com relação à fase de pupa, observa-se que não houve diferença significativa entre as cultivares com relação à sua duração média, que variou de 7,03 dias (DeltaOPAL) a 6,83 dias (NuOPAL) (Tabela 4). Este comportamento se manteve com relação à viabilidade média da fase, em que não se observou diferenças significativas entre as cultivares, com valores variando entre 100% (DeltaOPAL) a 97% (NuOPAL) (Tabela 4). No entanto, o peso médio de pupas com 24 horas de idade, foi significativamente menor na cultivar NuOPAL (2,101 mg) em relação à cultivar DeltaOPAL (2,413 mg) (Tabela 4).

A duração do período larva-adulto de *P. includens* apresentou diferença significativa para lagartas alimentadas na fase larval com as duas cultivares. A duração média do período larva-adulto na cultivar DeltaOPAL foi 25,11 dias, significativamente menor do que na cultivar NuOPAL com 31,80 dias (Tabela 5),

enquanto que a longevidade média dos adultos foi semelhante nas duas cultivares, variando de 2,69 dias em NuOPAL a 2,35 dias em DeltaOPAL (Tabela 5).

**Tabela 5.** Duração média (dias) e viabilidade média (%) do período larva-adulto, longevidade média e razão sexual de adultos de *P. includens* alimentada em cultivares Bt e não-Bt de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2011.

| Cultivar  | Período Larva-Adulto                      |                    | Longevidade<br>(dias) | Razão Sexual |
|-----------|---|--------------------|-----------------------|--------------|
|           | Duração<br>(dias)<br>( $\bar{m} \pm EP$ ) | Viab (%)           |                       |              |
| DeltaOPAL | 25,11 $\pm$ 0,64 b                        | 78,33              | 2,62                  | 0,53         |
| NuOPAL    | 31,80 $\pm$ 1,99 a                        | 58,33              | 2,64                  | 0,54         |
| Teste F   | 85,51**                                   | 5,71 <sup>ns</sup> | 0,03 <sup>ns</sup>    |              |
| CV (%)    | 12,74                                     | 67,04              | 18,50                 |              |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

A viabilidade do período larva-adulto variou de 58,33% na NuOPAL a 78,33% na DeltaOPAL, e a razão sexual dos adultos de 0,53 (NuOPAL) a 0,54 (DeltaOPAL) (Tabela 4).

#### 4. DISCUSSÃO

O efeito da cultivar de algodoeiro no comportamento e biologia dos insetos-praga é importante para o desenvolvimento de estratégias eficientes dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), evitando o surgimento de populações resistentes ao evento Bollgard I. Nesse sentido, Santos e Torres (2010) avaliaram a eficácia do algodão geneticamente modificado (Bt) (DeltaPine Acala 90) no controle de *S. frugiperda* e *A. argillacea*, e concluíram que a proteína Cry1Ac é eficaz no controle de *A. argillacea*, mas não possui ação supressiva sobre *S. frugiperda*, semelhante ao observado em *P. includens* no presente trabalho, embora seja considerada como praga-alvo da cultivar.

Os resultados de maior duração da fase larval de *P. includens* na cultivar NuOPAL, foram em função da expressão da toxina Cry1Ac presente nas folhas desta cultivar. Em bioensaios semelhantes desenvolvidos ao mesmo tempo com estas mesmas cultivares, Costa et al. (2011) verificaram 100% de mortalidade de lagartas de 1º e 2º instares de *A. argillacea*, em virtude da presença desta proteína nas folhas das plantas destas cultivares. A toxina Cry1Ac é relacionada a alta mortalidade de lagartas desfolhadoras como *A. argillacea*, porém não causando supressão de lagartas de *P. includens* e *S. frugiperda* em algodão no Brasil. Quando as lagartas destas espécies sobrevivem, apresentam alterações nos parâmetros biológicos, como na duração da fase larval do inseto, alongando-a e proporcionando menor massa corporal em função do baixo consumo de alimento.

No presente trabalho, a toxina Cry1Ac não afetou os parâmetros duração da fase pupal e viabilidade das pupas, uma vez que seu modo de ação se dá diretamente na fase larval, pela alimentação e ação tóxica da proteína na parede epitelial do intestino médio das lagartas, provocando septicemia e morte nas lagartas suscetíveis ou alterações no comportamento de alimentação nas lagartas pouco suscetíveis ao cristal protéico. Todavia, a proteína afetou o peso de pupas com 24 horas de idade, provavelmente pela influência negativa no comportamento de alimentação dos insetos durante a fase larval, refletindo em pupas menos desenvolvidas.

As cultivares geneticamente modificadas de algodoeiro com apenas a produção da proteína Cry1Ac não são consideradas eficientes contra algumas espécies de lepidópteros. Todavia, podem causar prolongamento da fase larval e menor peso das lagartas (STEWART et al., 2001).

Estudos realizados por Morales et al. (1995) relataram diferenças significativas na suscetibilidade de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e de *P. includens* a isolados de *B. thuringiensis*, sendo que *A. gemmatalis* foi 1,5 a 5,6 vezes mais suscetível aos inseticidas biológicos, compostos pelos isolados de *B. thuringiensis* HD-1 e BD-1, do que *P. includens*.

Observando-se os parâmetros biológicos de *P. includens*, cujas lagartas foram alimentadas com folhas das cultivares Bt NuOPAL e não-Bt DeltaOPAL, verificou-se que a cultivar transgênica apresentou significativamente maior duração

média das lagartas sobreviventes do que na sua isolinha convencional, assim como menor massa média corporal de lagartas aos 12 dias de idade e menor viabilidade larval, que a cultivar isolinha não-*Bt* (DeltaOPAL).

Esses resultados evidenciam claramente que a cultivar transgênica afetou o desenvolvimento das lagartas, não causando, todavia, mortalidade para parte da população. A vida útil deste evento Bollgard I é altamente dependente de programas de manejo da resistência dos insetos à proteína tóxica de *B. thuringiensis*, como o plantio de áreas de refúgio anexa a área cultivada. Assim, esta tecnologia pode ser utilizada em programas de manejo integrado de pragas como forma suplementar para o controle de *P. includens*, como uma planta moderadamente resistente, porém em altas densidades populacionais como ocorre nas áreas de algodoeiro dos cerrados brasileiros, este evento deixa a desejar na eficiência de controle desta praga que ocorre simultaneamente com outras lagartas desfolhadoras, necessitando pulverizações de inseticidas e elevando o custo de produção.

## 5.CONCLUSÕES

A cultivar transgênica NuOPAL atua de forma supressiva para metade da população larval de *P. includens* em algodoeiro, atuando negativamente em alguns parâmetros biológicos do inseto, prolongando a fase larval das lagartas sobreviventes, reduzindo o peso de lagartas aos 12 dias de idade, resultando em pupas de menor peso, e proporcionando maior período de larva-adulto, podendo influenciar negativamente na teoria do refúgio para manejar lagartas resistentes, uma vez que as lagartas oriundas de cultivares não-Bt apresentam ciclo significativamente menores que aqueles sobreviventes à tecnologia Bt, não ocorrendo sincronismo de populações de adultos oriundos das cultivar transgênica e convencionais.

## 6. REFERÊNCIAS

ADAMCZYK, J.J, GORE, J. Laboratory and field performance of cotton containing Cry1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (Widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.87, n.4, p.427-432, 2004.

ALFORD, A. R, HAMMOND, JR A. M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybean ecosystems as determined with loop lure-baited traps [*Pseudoplusia includens*, *Rachiplusia nu*, *Trichoplusia* spp.], **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.75, p.647–650, 1982.

BUENO, R. C. O. F, PARRA, J. R. P., BUENO, A. F, MOSCARDI, F., DI OLIVEIRA, J. R. G., CAMILLO, M. F. Sem Barreira. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v.93, p.12-15, 2007.

BUSOLI, A. C, GRIGOLLI, J. F. J., FRAGA, D. F., SOUZA, L. A., FUNICHELLO, M, NAIS, J., SILVA, E. A. Atualidades no MIP algodão no cerrado brasileiro. In: **Tópicos em Entomologia Agrícola IV**. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress Ltda. 4: 117-138. 2011.

COSTA, L. L, MARTINS, B. C, FUNICHELLO, M., BUSOLI, A. C. Dinâmica populacional de ovos e lagartas e parasitismo de ovos de curuquerê-do-algodoeiro por *Trichogramma pretiosum* em cultivares convencionais e transgênicas de algodoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, p.939-947, 2011.

FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J. F. J. ; FRAGA, D. F. ; CROSSARIOL NETTO, J. ; SOUZA, L. A.; SILVA, E. A.; BUSOLI, A. C. Distribuição vertical de lagartas de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares convencional e transgênica de algodoeiro.. In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012.

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

JACOME, A. G., SOARES, J. J., OLIVEIRA, R. H., CAMPOS, K. M. F., MACEDO, E. S, GONÇALVES, A. C. A. Importância das folhas da haste principal, das folhas do ramo no crescimento e produtividade do algodoeiro herbáceo CNPA 7H. **Acta Scientiarum: Agronom**, v.25, n.1, p.209-213, 2003.

LI, Y. X., GREENBERG, S. M., LIU, T. X. Effects of Bt cotton expressing Cry1Ac and Cry2Ab and non-Bt cotton on behavior, survival and development of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, Guildford, v.25, p.940-948, 2005.

MAIA, A. H. N. 2010. Definindo estratégias de manejo da resistência de pragas a toxinas Bt expressas em culturas transgênicas: o papel dos modelos de simulação. Disponível em: < [http://www.cnpma.embrapa.br/down\\_hp/345.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/down_hp/345.pdf)>. Acessado em: 10 de maio de 2012.

MORALES, L., MOSCARDI, F., KASTELIC, J. G., SOSA-GÓMEZ, D. R., PARO, F. E., SOLDORIO, E. I. L. Suscetibilidade de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), a *Bacillus thuringiensis* (Berliner). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.24, p.593-598, 1995.

RAMIRO, Z. A, FARIA, A. M. Levantamento de insetos predadores nos cultivares de algodão Bollgard DP 90 e convencional DeltaPine Acala 90. **Arquivos do Instituto Biológico**, Campinas, v.73, p.119-121, 2006.

SANTOS, R. L., TORRES, J. B. Produção da proteína Cry1Ac em algodão transgênico e controle de lagartas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.4: p.509-517, 2010

STEWART, S. D, ADAMCZYCK, J. J, KNIGHTEN, K. S, DAVIS, F. M. Impact of Bt cotton expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.94, n.3, p.752-760, 2001.

### **CAPÍTULO 3 – NÃO PREFERÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO DE *Pseudoplusia includens* (WALKER) POR CULTIVARES DE ALGODOEIRO Bt E NÃO-Bt**

**RESUMO** – Dentre os insetos-pragas que causam danos à cultura do algodoeiro, a lagarta-mede-palmo da soja, *Pseudoplusia includens*, vem se destacando atualmente nas regiões produtoras de algodão do Brasil. Uma das estratégias sustentáveis para um sistema de MIP, é a utilização de cultivares resistentes às pragas portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar a atratividade e o consumo foliar de *P. includens* em cultivares convencionais (DeltaOPAL, NuOPAL, FM 993 e FM 910) de algodoeiro e na cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>). Foram realizados testes de não-preferência para alimentação de lagartas, com e sem chance de escolha, seguindo o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 10 repetições. Em ambos os testes, avaliou-se a atratividade das lagartas em relação aos diferentes cultivares a 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 360, 720, 1440, 1800, 2160, 2880 e 3240 minutos após a liberação das mesmas. Também foi avaliada a massa seca foliar consumida pelos insetos. Todas as cultivares foram preferidas para a alimentação de *P. includens* em relação às cultivares de algodoeiro estudadas, inclusive a cultivar NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>), que não apresenta resistência do tipo preferência para alimentação à lagartas de 3<sup>o</sup> instar.

**Palavras-chave:** atratividade, Cry1Ac, lagarta mede-palmo da soja, NuOpal (Bollgard I<sup>®</sup>)

## 1. INTRODUÇÃO

O agroecossistema algodoeiro possui algumas espécies de insetos, principalmente da Ordem Lepidoptera, que podem ocasionar prejuízos econômicos se não forem adotadas medidas de controle. Dentre estas pragas, *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) vem causando danos significativos na cultura do algodoeiro nos últimos anos, no Centro-Oeste do Brasil, principalmente nos sistemas de plantio direto de soja precoce na primavera e verão e posteriormente algodão “safrinha” com semeadura em fevereiro (verão).

A lagarta falsa-medideira *P. includens* possui ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer do extremo norte dos Estados Unidos da América até o extremo sul da América do sul (ALFORD; HAMMOND JR., 1982). Este inseto, após o terceiro instar consome grande área foliar, mantendo, porém, íntegras as nervuras principais, o que confere um aspecto rendilhado às folhas atacadas (HERZOG, 1980).

Os adultos são mariposas com cerca de 35 mm de envergadura com as asas anteriores de coloração cinza-escura, apresentando um pequenas manchas prateadas no centro, em forma de “U”. Os ovos são colocados isoladamente na face inferior das folhas e nos ponteiros, apresentando a coloração branca. As larvas se locomovem como “mede-palmo”, porque possui somente dois pares de pernas abdominais, de cor verde clara, que se acentua à medida que elas crescem. Quando desenvolvidas atingem 30 mm de comprimento, apresentam faixas brancas longitudinais, laterais e duas finas dorsais, sendo a cabeça de cor verde clara (SILVIE; BÉLOT; MICHEL, 2007).

A principal forma de controle desta praga na soja e algodoeiro, é através do uso de inseticidas, no entanto, aplicações de produtos químicos de largo espectro de ação, pode causar desequilíbrios ao agroecossistema do algodoeiro (SANTOS; WERLANG, 2005).

Dessa forma, o uso de cultivares resistentes torna-se uma estratégia sustentável de controle, pois o algodoeiro apresenta uma série de aldeídos terpenos, como gossipol, heliocidas e hemigossipolone, que conferem resistência às lagartas de várias espécies de lepidópteros (BASTOS et al., 2008).

Além destas substâncias químicas naturais presentes nas plantas de algodoeiro, pesquisas em biotecnologia, levaram a obtenção de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas tóxicas para lagartas de alguns lepidópteros, entre as quais, a Cry1Ac (BRITO, 2000; BOBROWSKI et al., 2003). Através dessa tecnologia, foi obtido o algodão geneticamente modificado, denominado Bollgard I<sup>®</sup>, cujas plantas produzem a  $\alpha$ -endotoxina de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, que é altamente patogênica para a maioria das lagartas de lepidópteros. A cultivar comercial de Bollgard I<sup>®</sup> foi nomeada como NuOPAL, sendo sua isolinha comercial não-Bt, a DeltaOPAL.

JESUS (2009) estudou os tipos de resistência de cultivares de algodoeiro, entre estas, a cultivar NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) e de *Alabama argillacea* (Hubner, 1818), e verificaram que a cultivar Bt NuOPAL apresentou resistência do tipo não-preferência para alimentação para *A. argillacea* e *S. frugiperda*.

Portanto, devido a importância crescente de *P. includens* em algodoeiros convencionais não-Bt, e Bt que expressam somente a proteína Cry1Ac, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atratividade e o consumo foliar por lagartas de 3<sup>o</sup> instar de *P. includens* em cultivares comerciais de algodoeiro mais cultivadas no Centro-Oeste e da cultivar NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas do Depto. De Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, SP, sob condições de temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Na área experimental foram semados três cultivares de algodoeiro convencionais DeltaOPAL, FM 993 e FM 910, e a cultivar transgênica NuOPAL. A semeadura foi realizada no dia 19 de novembro de 2010, e após a emergência das plantas, efetuou-se o desbaste, mantendo-se dez plantas por metro linear. O solo foi preparado e corrigido de acordo com as recomendações de SOUSA e LOBATO (2004). Cada parcela foi constituída por seis linhas de dez metros de comprimento,

espaçadas em 0,9 m entre si. As áreas úteis das parcelas foram as quatro linhas centrais de plantas, excluindo-se um metro em cada extremidade da linha.

Não foi realizada qualquer aplicação de herbicidas e inseticidas na área experimental, sendo o controle de plantas daninhas realizado com cultivador tratorizado mecânico no início do desenvolvimento das plantas e, posteriormente, por meio de capinas manuais. Aos 45 DAE foi aplicado o regulador de crescimento cloreto de mepiquat (Pix), na dose de 0,5 L ha<sup>-1</sup>, para manejar a altura das plantas entre 1,2 e 1,3 m.

## 2.1 Criação de manutenção de *P. includens*

Em laboratório climatizado do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Depto. De Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, SP, sob condições de 25° ± 1 °C; 70 ± 10% UR e fotofase de 12 horas, a criação de *P. includens* foi iniciada a partir de ovos provenientes de populações mantidas em dietas artificiais. Após a eclosão, as lagartas foram transferidas para recipientes plásticos de 7,0 cm de diâmetro e 5,0 cm de altura com capacidade de 100 mL. Em cada recipiente de criação foram colocados aproximadamente 20 mL de dieta artificial, a qual foi transferida em estado líquido e se solidificou ao fundo do recipiente. A dieta artificial foi preparada à base de feijão branco, levedura de cerveja, germe de trigo e caseína, de acordo com a metodologia de Greene; Leppla; Dickerson (1976). Foram transferidas três lagartas por recipiente, onde permaneceram até se transformarem em pupas.

As pupas foram transferidas para as gaiolas de oviposição, constituídas por tubos de PVC de 20,0 cm de diâmetro por 20,0 cm de altura, cobertas com tecido *voile* e revestidas internamente com papel sulfite a fim de permitir a oviposição pelos adultos. No fundo da gaiola foi colocado um prato plástico de 14,0 cm de diâmetro revestido por papel sulfite de mesmo diâmetro da gaiola. Para a alimentação dos adultos foi oferecida solução de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão, o qual foi trocado diariamente para evitar contaminações por microrganismos.

Durante a oviposição, os ovos colocados no *voile* e papel sulfite foram retirados, diariamente, e transferidos para recipientes plásticos de 7,0 cm de

diâmetro e 5,0 cm de altura com capacidade de 100 mL contendo aproximadamente 27,0 cm<sup>3</sup> da dieta artificial, mantido com uma tampa de plástico até a eclosão das lagartas. Em seguida, estas foram transferidas, com auxílio de um pincel umedecido em água destilada, para os recipientes de criação, previamente descritos.

## **2.2 Teste de não preferência para alimentação de lagartas de *P. includens***

Para o experimento de não preferência para alimentação de lagartas, foram realizados testes com e sem chance de escolha. Para ambos os testes, folhas da parte mediana do dossel das plantas das cultivares de algodoeiro com 120 dias de idade foram coletadas em campo, lavadas em solução de água destilada e hipoclorito de sódio a 0,5% e, por meio de um vazador, foram preparados discos foliares de 2,5 cm de diâmetro.

No teste com chance de escolha, os discos foliares foram dispostos de forma equidistantes entre si em placas de Petri de 14 cm de diâmetro contendo ao fundo papel filtro levemente umedecido com água destilada, onde cada disco foliar representou uma cultivar. Em seguida, liberaram-se no centro da placa quatro lagartas de 3º instar de *P. includens*, ou seja uma lagarta por cultivar, segundo metodologia de Boiça Junior; Chagas Filho; Souza (2010). Para esse teste, utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso, com 10 repetições.

No teste sem chance de escolha, foi utilizado apenas um disco foliar (cultivar) por placa de Petri de 8,0 cm de diâmetro, onde foi liberada uma lagarta de 3º instar por placa. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições.

Em ambos os testes, avaliou-se a atratividade das lagartas em relação aos diferentes cultivares a 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 360, 720, 1440, 1800, 2160, 2880 e 3240 minutos após a liberação das mesmas. Também foi avaliada a massa seca consumida (M.S.C.) pelas lagartas. Para isto, discos foliares representantes de cada tratamento, foram retirados aos pares das folhas das plantas de algodoeiro por meio de um vazador de 2,5 cm de diâmetro. Um dos discos foliares foi oferecido às lagartas durante a realização do teste e o outro foi levado à estufa a 60 °C, durante

24 horas, para se obter a massa seca foliar, servindo como alíquota. Ao final dos testes, a sobra dos discos alimentados pelas lagartas foram secos da mesma forma e, por meio da diferença entre a massa seca da alíquota e da sobra da alimentação das lagartas chegou-se à massa seca foliar consumida.

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) pelo teste F, sendo suas médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados referentes ao número de insetos atraídos nos diversos tempos foram transformados em  $(x + 0,5)^{1/2}$ , e os dados referentes a massa seca consumida foram transformados em  $(x + 1)^{1/2}$ , para melhor distribuição das médias dos tratamentos ao redor da média geral das repetições experimentais.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A partir dos resultados obtidos no teste de não preferência para alimentação com chance de escolha, pode-se observar que não houve diferença significativa da atratividade das lagartas de 3<sup>o</sup> instar de *P. includens* em qualquer período de tempo avaliado (Tabela 1). A massa seca consumida também não diferiu significativamente entre as cultivares convencionais e transgênica de algodoeiro (Tabela 1). No entanto, quantitativamente houve uma tendência de maior consumo foliar do cultivar FM 993 pela lagarta falsa-medideira da soja, com 7,0 mg, de massa seca consumida até o tempo de 3240 minutos ou 54 horas após serem soltas.

**Tabela 1.** Número médio de lagartas de 3º instar de *Pseudopiusia includens* atraídas em diferentes tempos de alimentação e massa seca foliar consumida (M.S.C.) de cada cultivar de algodoeiro pelas lagartas, em testes com e sem chance de escolha. Temp.: 25 ± 1 °C; U.R.: 70 ± 10%; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2011.

| CULTIVAR                    | TEMPOS DE ALIMENTAÇÃO |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    | M.S.C.<br>(mg)     |                    |                    |                    |                    |      |
|-----------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|
|                             | 1'                    | 3'                 | 5'                 | 10'                | 15'                | 30'                | 60'                | 120'               | 360'               | 720'               | 1440'              | 1800'              |                    | 2160'              | 2880'              | 3240'              |                    |      |
| TESTE COM CHANCE DE ESCOLHA |                       |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |      |
| DeltaOpal                   | 0,00                  | 0,00               | 0,10               | 0,00               | 0,10               | 0,10               | 0,20               | 0,00               | 0,20               | 0,20               | 0,90               | 0,80               | 0,40               | 0,60               | 0,60               | 0,80               | 0,30 a             | 5,80 |
| NuOpal                      | 0,00                  | 0,10               | 0,10               | 0,20               | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,20               | 0,50               | 0,60               | 0,60               | 0,30               | 0,30               | 0,40               | 0,60               | 0,30               | 0,26 a             | 5,60 |
| FMX 993                     | 0,20                  | 0,20               | 0,20               | 0,30               | 0,30               | 0,20               | 0,20               | 0,40               | 1,00               | 1,00               | 1,00               | 0,70               | 0,80               | 1,00               | 0,80               | 0,80               | 0,54 b             | 7,00 |
| FMX 910                     | 0,10                  | 1,10               | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,20               | 0,20               | 0,40               | 0,40               | 0,20               | 0,50               | 0,60               | 0,30               | 0,30               | 0,40               | 0,50               | 0,28 a             | 5,70 |
| Teste F                     | 1,25 <sup>ns</sup>    | 0,94 <sup>ns</sup> | 0,18 <sup>ns</sup> | 1,12 <sup>ns</sup> | 0,72 <sup>ns</sup> | 0,84 <sup>ns</sup> | 0,14 <sup>ns</sup> | 0,95 <sup>ns</sup> | 2,25 <sup>ns</sup> | 2,58 <sup>ns</sup> | 1,14 <sup>ns</sup> | 1,11 <sup>ns</sup> | 1,58 <sup>ns</sup> | 0,27 <sup>ns</sup> | 1,36 <sup>ns</sup> | 7,24*              | 0,38 <sup>ns</sup> |      |
| CV(%)                       | 18,76                 | 152,76             | 24,75              | 25,38              | 24,41              | 25,06              | 27,00              | 33,67              | 35,20              | 31,62              | 30,89              | 33,84              | 38,08              | 37,91              | 30,25              | 32,57              | 0,15               |      |
| TESTE SEM CHANCE DE ESCOLHA |                       |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |      |
| DeltaOpal                   | 0,00                  | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,00               | 0,10               | 0,60               | 0,80               | 0,70               | 0,80               | 0,60               | 0,24 a             | 4,80               |      |
| NuOpal                      | 0,10                  | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,20               | 0,40               | 0,30               | 0,30               | 0,90               | 0,90               | 0,70               | 1,00               | 0,80               | 0,39 a             | 8,70               |      |
| FMX 993                     | 0,00                  | 0,00               | 0,00               | 0,10               | 0,10               | 0,10               | 0,30               | 0,50               | 0,30               | 0,80               | 0,80               | 0,80               | 0,80               | 0,80               | 0,70               | 0,33 ab            | 10,30              |      |
| FMX 910                     | 0,10                  | 0,10               | 0,10               | 0,00               | 0,00               | 0,10               | 0,20               | 0,30               | 0,50               | 0,50               | 0,70               | 0,90               | 0,90               | 0,80               | 0,60               | 0,39 b             | 5,70               |      |
| Teste F                     | 0,66 <sup>ns</sup>    | 0,66 <sup>ns</sup> | 1,00 <sup>ns</sup> | 0,66 <sup>ns</sup> | 0,33 <sup>ns</sup> | 0,70 <sup>ns</sup> | 1,22 <sup>ns</sup> | 2,75 <sup>ns</sup> | 1,26 <sup>ns</sup> | 2,83 <sup>ns</sup> | 0,24 <sup>ns</sup> | 0,49 <sup>ns</sup> | 0,75 <sup>ns</sup> | 1,23 <sup>ns</sup> | 3,43*              | 2,11 <sup>ns</sup> |                    |      |
| CV(%)                       | 15,79                 | 15,79              | 11,36              | 15,79              | 19,00              | 20,96              | 25,77              | 26,42              | 27,57              | 0,85               | 16,81              | 20,14              | 16,47              | 24,40              | 27,61              | 0,27               |                    |      |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No teste sem chance de escolha, não foram observadas diferenças significativas na atratividade das lagartas de *P. includens* entre os cultivares de algodoeiro, considerando-se as contagens em todas os tempos de observação, porém, quando observada a média geral de todos os tempos de observação, verifica-se que a cultivar FM 993, foi significativamente mais atrativa, em relação às demais, tanto nos testes com e sem chance de escolha (Tabela 1).

Quanto ao consumo foliar, não houve diferença significativa da massa seca consumida entre as cultivares de algodoeiro (Tabela 1). Contudo, de forma semelhante ao teste com chance de escolha, observou-se uma leve tendência de maior preferência alimentar da lagarta falsa-medideira pelo cultivar FM 993, com 10,30 mg, enquanto, quantitativamente, DeltaOpal apresentou o menor valor da massa seca foliar consumida, ou seja, menos da metade (4,80 mg) em relação à FM 993.

JESUS (2009) avaliando a não preferência para alimentação de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* (J. E. Smith) a seis cultivares de algodoeiro, observou menor atratividade de lagartas à FM 993 e FM 910, enquanto DeltaOpal e FM 966 foram as mais atrativas, em teste com chance de escolha. Já em relação à massa seca foliar consumida, verificou maior e menor consumo nos cultivares DeltaOpal e NuOpal, com 4,51 e 1,58 mg, respectivamente. Este autor ao estudar a não preferência para alimentação de *A. argillacea* em cultivares de algodoeiro, constatou que de forma geral, houve maior consumo foliar dos cultivares FM 966 e FM 910 tanto por lagartas recém-eclodidas, quanto de 3º instar, enquanto NuOpal foi a cultivar menos preferida.

Observando-se as médias gerais de todas as observações, verificou-se que houve diferença significativa entre as cultivares, no teste com chance de escolha, com a cultivar FM 993 sendo a mais atrativa, em relação às outras cultivares, enquanto no teste sem chance de escolha, a menos atrativa foi a DeltaOPAL. A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, observa-se que, o mecanismo de ação tóxica no trato digestivo apresentado pela cultivar NuOPAL, que expressa a toxina Cry1Ac, fez com que a mesma se comportasse como resistente do tipo não preferência para alimentação à *S. frugiperda* e *A. argillacea*, provavelmente não atue da mesma forma ou com a mesma intensidade para *P. includens*, visto que a cultivar

transgênica foi igualmente atrativa e consumida em relação às cultivares convencionais. Estes resultados são preocupantes, pois na literatura existente, cita-se que a *P. includens* é praga alvo daquela cultivar Bt.

Vale ressaltar ainda que, os resultados apresentados pela cultivar transgênica NuOpal tenha se comportado da mesma forma que as cultivares convencionais em relação à atratividade e consumo foliar no período de tempo avaliado nesse experimento, conclui-se que o tempo de 3240 minutos (54 horas ou 2,2 dias) não foi suficiente para as lagartas de 3º instar consumirem quantidades representativas de áreas ou pesos foliares, que consomem normalmente naquele instar quando em cultivares suscetíveis. Considerando-se o ensaio do capítulo 2, quando as lagartas foram alimentadas com folhas das cultivares desde o 1º instar larval, e que menos sobreviventes foram verificados na cultivar Bt (NuOPAL), conclui-se pelos dados do presente experimento, que a praga foi atraída para todas as cultivares para a alimentação, porém como discutido anteriormente, o tempo do confinamento não foi suficiente para a discriminação da quantidade consumida.

#### **4. CONCLUSÕES**

- Todas as cultivares apresentam atratividade à lagartas de 3º instar de *P. includens*;
- Não observou-se resistência do tipo não preferência para alimentação de lagartas de 3º instar de *P. includens* nas cultivares testadas, inclusive na NuOPAL (Bollgard I)

## 5. REFERÊNCIAS

ALFORD, A.R.; HAMMOND JR., A.M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybean ecosystems as determined with loop lure-baited traps [*Pseudoplusia includens*, *Rachiplusia nu*, *Trichoplusia* spp.], **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.75, p.647–650, 1982.

BASTOS, C. S.; SUINAGA, F. A.; VIEIRA, R. M.; LIMA, E. F. Resistência de algodoeiro a artrópodes-praga. In: BELTRÃO, N. E. M.; AZEVEDO, D. M. P. (Ed.). **O Agronegócio do algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v.1, 2008, p.355-411.

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

BOIÇA JUNIOR, A. L. ; CHAGAS FILHO, N. R. ; SOUZA, J. R. de . Não-preferência para oviposição de traça-das-crucíferas em genótipos de couve-flor. **Revista Caatinga (Online)**, Fortaleza, v. 23, p. 28-33, 2010.

BRITO, L.O. **Adaptação de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) a inibidores de proteinases de plantas transgênicas de fumo**. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

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

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.

JESUS, F. G. **Resistência de cultivares de algodoeiro sobre *Spodoptera frugiperda* e *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) e efeito na biologia e comportamento de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)**. 2009. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração: Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

SANTOS, J. G. M.; WERLANG, R. C. Eficiência de inseticidas no controle de *Pseudoplusia includens* na cultura do algodoeiro. In: **Congresso Brasileiro de Algodão**, 5, 2005, Salvador. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. CD-ROM.

SILVIE, P.; BÉLOT, J. L.; MICHEL, B. 2007. **Manual de identificação das pragas e seus danos no cultivo de algodão**. 2. ed. Cascavel: COODETEC/CIRAD-CA. 120 p.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. Calagem e adubação para culturas anuais e semiperenes. In: SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. (Eds). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2.ed. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2004. p.283-315.

## **CAPÍTULO 4 – DISTRIBUIÇÃO VERTICAL DE LAGARTAS DE *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM CULTIVAR CONVENCIONAL E TRANSGÊNICA DE ALGODOEIRO.**

**RESUMO** - A lagarta *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) vem causando danos econômicos nas plantas de algodoeiro nas principais regiões produtoras do país. O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição intra-planta de lagartas de *P. includens* na cultivar convencional FM 993 e na sua isolinha transgênica FM 975 WS (WideStrike) que expressa as proteínas tóxicas Cry1Ac e Cry1F. O experimento foi realizado na Fazenda Alvorada em Chapadão do Sul – MS, no ano agrícola de 2011/2012, com delineamento em bloco casualizados em esquema de parcelas subdivididas, com 06 tratamentos (3 terços da planta x 2 faces foliares), e 40 repetições. As plantas avaliadas foram arrancadas e visualmente divididas em três terços do dossel (superior, médio e inferior) e nas faces adaxial e abaxial das folhas, registrando-se o número de lagartas. A avaliação foi realizada aos 55 DAE, quando as plantas encontravam-se no estágio fenológico F2. Os dados obtidos foram transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$  e submetidos a Análise de Variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Lagartas de *P. includens* foram encontradas em maior número na cultivar não-Bt (FM 993), enquanto na cultivar transgênica FM 975 WS (WideStrike), foram encontradas apenas lagartas pequenas, e em número significativamente menor que na sua isolinha não-Bt (FM 993). As lagartas, independente de seu tamanho e da cultivar, foram mais encontradas na parte inferior e mediana do dossel das plantas, e na face abaxial das folhas.

Palavras-chave: distribuição intra-planta, *Gossypium hirsutum*, lagarta-mede-palmo da soja, planta transgênica

## 1. INTRODUÇÃO

A melhoria obtida na qualidade da pluma e da fibra de algodão na última década do século XX, promoveu um crescimento na cotonicultura brasileira, pela exportação de fibras requeridas no mercado internacional. A produtividade também aumentou, e estima-se que este incremento, seja superior em 5,3% nos últimos anos, que foi de 3.876 kg/ha de algodão em caroço, favorecido principalmente pela boa situação climática. Além disso, a estimativa de produção é de 1.238,2 mil toneladas, estabelecendo incrementos de 2% em plumas, em relação à safra de 2008/2009, contrariando as estimativas iniciais de redução da oferta da fibra (CONAB, 2011).

No entanto, algumas espécies de insetos que ocorrem na cultura do algodoeiro podem ocasionar prejuízos econômicos se não forem adotadas algumas medidas de controle. Dentre os insetos-pragas que podem causar dano na cultura, podemos citar a lagarta mede-palmo da soja, *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) de maior ocorrência na soja até a década passada, eventualmente atacando algodoeiro no Brasil. No entanto, devido os produtores da região Centro-Oeste terem visto no algodoeiro uma alternativa para rotação e plantio sucessivo com outras culturas economicamente importantes, como após a soja precoce (FONTES et al., 2006), esta praga tem causado danos consideráveis na cultura do algodoeiro nos últimos anos.

O uso de inseticidas é a forma mais comum de controle desta praga nas plantas de soja ou algodoeiro, no entanto, pode acarretar prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana, além de surgirem populações resistentes a estes agroquímicos (MAIA, 2010).

A transgenia surgiu como uma alternativa para minimizar os efeitos das pragas, através da ação direta, específica e eficiente sobre as mesmas. Atualmente, a utilização de genes oriundos da bactéria *Bacillus thuringiensis* tem sido empregada no processo de obtenção de plantas transgênicas, visando o controle de lagartas de lepidópteros.

Inicialmente, ocorreu, no Brasil, em março de 2005, a liberação comercial da cultivar Bollgard I da Monsanto Brasil Ltda., de acordo com o Parecer Técnico

Conclusivo, CTNBIO nº 513/2005, denominada de NuOPAL, que expressa a proteína tóxica Cry1Ac, considerada altamente patogênica para algumas lagartas de lepidópteros, e pouco efetiva para outras espécies, inclusive *P. includens* no algodoeiro. Mais recentemente, foi obtido a cultivar de algodoeiro WideStrike resultante de uma combinação das proteínas de Cry1F e Cry1Ac de *B. thuringiensis*, liberada pela CTNBio para plantio no Brasil a partir de 2006 (CTNBio, 2012).

WideStrike é uma cultivar geneticamente modificada através da sobreposição de genes, principalmente para produzirem simultaneamente as proteínas inseticidas Cry1F e Cry1Ac, principalmente a primeira, mais efetiva para lepidópteros pragas do milho e algodão. De acordo com a Dow AgroSciences, a característica de proteção contra insetos WideStrike foi extensivamente testada afim de verificar a sua eficácia, o seu desempenho agrônômico e manejo da resistência em vários locais em todo o cinturão de algodão dos EUA entre 2001/02 e 2003/04. Esta nova cultivar tem fornecido um amplo controle a um largo espectro de lagartas de lepidópteros, como a lagarta da maçã do algodão (*Heliothis virescens*), lagarta-rosada (*Pectinophora gossypiella*), lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) e *Spodoptera exigua*, lagartas de *Trichoplusia ni* e lagarta falsa-medideira da soja *P. includens* (ICAC, 2004).

De um modo geral, os investimentos realizados para controle de pragas na cultura do algodoeiro correspondem a proporções entre 25% e 30% do total do custo de produção, fato este que confere ao manejo de pragas um componente significativo na rentabilidade da cultura e fator preponderante para a obtenção de lucros na atividade (FREIRE et al., 1997). Neste aspecto, o conhecimento do agroecossistema, de suas pragas, é de fundamental importância dentro de um programa de MIP, para a realização de amostragem segura e correta (BUSOLI et al., 2011).

Desta forma, a realização de amostragens intra-plantas, também conceituada como distribuição vertical, tem como principal justificativa o fato de que se pode, através desse conhecimento, definir formas de agilizar e aumentar a confiabilidade do processo de amostragem de insetos em uma determinada cultura (FERNANDES et al., 2006).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a distribuição vertical de lagartas pequenas, médias e grandes de *P. includens* nos terços superior, médio e inferior do dossel das plantas da cultivar transgênica FM 975 (WideStrike) (Cry1Ac e Cry1F) e da cultivar convencional FM 993. Também foi objetivo, estudar a localização das lagartas nas faces abaxial e adaxial das folhas, conforme sua posição nos terços das plantas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Alvorada em Chapadão do Sul - MS , no ano agrícola de 2011/2012. Foram escolhidas duas áreas, uma com a cultivar transgênica FM 975 WideStrike e a outra com a sua isolinha convencional FM 993.

O delineamento experimental adotado foi em esquema de parcelas subdivididas para cada uma das cultivares (FM 993 e FM 975 WS), com 6 tratamentos, sendo estes compreendidos de 3 terços das plantas (superior, médio e inferior) x 2 faces das folhas (face abaxial e adaxial) em 40 repetições, onde cada repetição consistia na avaliação minuciosa de uma planta inteira.

A avaliação do número de lagartas em todo o dossel das plantas foi realizada aos 55 DAE (dias após a emergência das plantas) quando estas encontravam-se no estágio fenológico F2, e com a presença da praga nas respectivas áreas estudadas.

As plantas foram arrancadas e divididas visualmente em três terços: superior, médio e inferior e observando a presença de lagartas em dois locais específicos das folhas (face abaxial e adaxial das folhas).

Para aproximar a distribuição das médias em torno da média geral do experimento, os dados obtidos foram transformados em  $(x+0,5)^{1/2}$  e submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os resultados, verificou-se que, em relação a distribuição vertical de lagartas de *P. includens* na cultivar convencional FM 993, os terços médios e inferiores das plantas foram os mais preferidos com a presença de lagartas de todos os tamanhos (Tabela 1 e 4).

Tabela 1. Número médio de lagartas de *P. includens* em diferentes terços das plantas e faces das folhas na cultivar convencional FM 993. Chapadão do Sul – MS, 2012.

| <b>Terço (T)</b>          | <b>Média</b> |
|---------------------------|--------------|
| Superior                  | 0,22 b       |
| Médio                     | 0,57 a       |
| Inferior                  | 0,61 a       |
| F (T)                     | 5,87**       |
| <b>Face da folha (FF)</b> | <b>Média</b> |
| Adaxial                   | 0,05 b       |
| Abaxial                   | 0,89 a       |
| F (FF)                    | 66,00**      |
| CV (Terço)                | 34,38        |
| CV (FF)                   | 37,42        |

Média seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo Herzog (1980) e Bueno et al. (2009), as lagartas se alimentam de folhas localizadas no terço inferior das plantas, logo nos primeiros instares, selecionam as folhas mais tenras, se alimentando daquelas com pequena quantidade de fibra, no entanto tornam-se menos exigentes à medida que vão se desenvolvendo.

A interação entre os fatores terços das plantas e face das folhas na cultivar FM 993 foi significativa, de modo que os terços médios e inferiores apresentaram o maior número de lagartas, e quase totalmente localizadas na face abaxial das folhas (Tabela 2), embora o terço superior seja a região com maior presença de folhas novas e tenras, provavelmente, é a região onde as lagartas ficam mais expostas às condições adversas de fatores meteorológicos, ou maior exposição a predadores e parasitoides.

Tabela 2. Desdobramento da interação terços das plantas e faces das folhas na cultivar convencional FM 993. Chapadão do Sul –MS, 2012.

| Terço    | Adaxial | Abaxial |
|----------|---------|---------|
| Superior | 0,02 aA | 0,42 bA |
| Médio    | 0,12 aB | 1,02 aA |
| Inferior | 0,00 aB | 1,22 aA |

Média seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao número médio de lagartas de *P. includens* nos diferentes terços das plantas na cultivar transgênica FM 975 WS (Tabela 3), observa-se que não houve diferença significativa entre os terços, no entanto as poucas lagartas observadas, estavam também na face abaxial das folhas, semelhante a sua isolinha comercial FM 993 (Tabela 1) Estes resultados provavelmente, sejam devidos à alta eficiência de redução de lagartas pela ação conjunta das proteínas Cry1Ac e Cry1F, sendo observadas predominantemente lagartas pequenas que ainda estavam se alimentando dos tecidos foliares da referida cultivar.

Segundo as pesquisas de Jackson et al. (2006); Lorenz et al. (2006) e Tindall; Leonard; Emfinger (2006), a proteína tóxica Cry1F age logo nos primeiros instares do desenvolvimento das lagartas, provavelmente, o fato da cultivar apresentar apenas lagartas pequenas, isto é, menores que 10 mm de comprimento, seja devido a este fator.

Tabela 3. . Número médio de lagartas de *P. includens* em diferentes terços das plantas e faces das folhas na cultivar transgênica FM 975 WS. Chapadão do Sul – MS, 2012.

| <b>Terço (T)</b>          | <b>Média</b>       |
|---------------------------|--------------------|
| Superior                  | 0,05 a             |
| Médio                     | 0,02 a             |
| Inferior                  | 0,00 a             |
| F (T)                     | 1,56 <sup>ns</sup> |
| <b>Face da folha (FF)</b> | <b>Média</b>       |
| Adaxial                   | 0,00 b             |
| Abaxial                   | 0,05 a             |
| F (FF)                    | 4,68 <sup>*</sup>  |
| CV (Terço)                | 34,10              |
| CV (FF)                   | 34,10              |

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

No Brasil, ainda é pouco estudado o impacto da cultivar Bt WideStrike, comercialmente conhecida como FM 975 WS, sobre várias lagartas pragas do algodoeiro, pois apesar desta cultivar ser liberada em 2006, somente há dois anos foi disponibilizado sementes para o seu uso comercial e para pesquisas na empresa Bayer, parceira da empresa Dow Agrosiences, detentora do evento. Nos EUA, os pesquisadores Adamczyk e Gore (2004), avaliaram a eficácia desta nova cultivar Bt que expressa as proteínas inseticidas Cry1Ac e Cry1F para *Spodoptera frugiperda*, e concluíram que somente a expressão da proteína Cry1F, foi suficiente para reduzir populações dessas lagartas em algodoeiro. Com relação à *P. includens*, em estudos com o uso de proteínas purificadas Cry em dietas artificiais, Sims (1997) verificou que a proteína inseticida Cry2Ab foi dez vezes mais tóxica à *P. includens* do que a Cry1Ac.

Embora a cultivar transgênica FM 975 WS, evento conhecido comercialmente como WideStrike, tenha sido cultivada em grandes áreas pela primeira vez em 2011/12 no Centro Oeste do país, pelos resultados levantados na presente pesquisa e pelos resultados obtidos no final da safra pelos produtores de algodão, especialmente da Fazenda Alvorada na região de Chapadão do Sul, MS, o emprego desta cultivar foi eficiente na redução de populações de lagartas de *P. includens*, não sendo encontradas lagartas médias e grandes, e nem sintomas de desfolhamentos causados por esta praga, fato observado no campo da cultivar isolinha não transgênica FM 993, onde foram necessárias pulverizações com inseticidas para evitar danos econômicos pela praga.

Tabela 4. Número médio de lagartas pequenas, médias e grandes de *P. includens* presentes na cultivar convencional FM 993. Chapadão do Sul, MS. 2012.

| <b>Tamanho</b> | <b>Média</b> |
|----------------|--------------|
| Pequena        | 1,72 a       |
| Média          | 0,70 b       |
| Grande         | 0,47 b       |
| Teste F        | 9,23**       |
| CV (%)         | 40,82        |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 5. Número médio de lagartas pequenas, médias e grandes de *P. includens* presentes na cultivar transgênica FM 975 WS. Chapadão do Sul, MS. 2012.

| <b>Tamanho</b> | <b>Média</b> |
|----------------|--------------|
| Pequena        | 0,12 a       |
| Média          | 0,00 b       |
| Grande         | 0,00 b       |
| Teste F        | 4,04*        |
| CV (%)         | 15,15        |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup>Não significativo; \*\*significativo a 1% de probabilidade.

#### 4. CONCLUSÕES

- A cultivar transgênica FM 975 WS (WideStrike) é eficaz na redução de lagartas da praga;
- Na cultivar FM 975 WS foram encontradas somente lagartas pequenas; e
- Lagartas de *P. includens* preferem se localizar nos terços médios e inferiores do dossel das plantas, e preferencialmente na face abaxial das folhas de ambas as cultivares.

## 5. REFERÊNCIAS

ADAMCZYK JR., J. J., GORE, J. Laboratory and field performance of cotton containing CRY1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (WideStrike) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.87, n. 4, p.427-432, 2004.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.38. n.3, p. 389-394, 2009.

BUSOLI, A. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; FUNICHELLO, M.; NAIS, J.; SILVA, E. A. Atualidades no MIP algodão no cerrado brasileiro. In: BUSOLI, A. C.; FRAGA, D. F.; SANTOS, L. C.; ALENCAR, J. R. C. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; JANINI, J. C.; SOUZA, L. A.; VIANA, M. V.; FUNICHELLO, M. (Ed.). **Tópicos em Entomologia Agrícola IV**. Jaboticabal: Multipress, 2011. p. 117-138.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, set/2011. 41 p.

CTNBIO. Aprovações comerciais – CTNBIO. Disponível em: <http://www.cib.org.br/ctnbio/EventosAprovados-Abr-2012.pdf>. Acessado em: 20 de abril de 2012.

FERNANDES, M. G.; SILVA, A. M.; DEGRANDE, P. E.; CUBAS, A. C. Distribuição vertical de lagartas de *Alabama argillacea* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de algodão. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, n. 78, p. 28-35, 2006.

FONTES, E. M. G.; SILVA, F. R.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A. V.; SIMON, M. F.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. The cotton agricultural context in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. (Eds.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI Publishing, 2006, v. 2. p. 21-66.

FREIRE, E. C. **Cultivares e produção de sementes na melhoria da qualidade do algodão no nordeste e centro-oeste do Brasil.** Boletim Informativo EMBRAPA/CNPA, 1997.

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

ICAC, 2004. **Short Notes.** Disponível em: <[http://www.icac.org/cotton\\_info/tis/biotech/documents/recorderdocs/march\\_04.pdf](http://www.icac.org/cotton_info/tis/biotech/documents/recorderdocs/march_04.pdf)>. Acessado em: 20 de maio de 2012.

JACKSON, R. E.; MALONE, S.; BRADLEY, J. R.; VAN DUYN, J.; HERBERT, A.; HUCKABA, R. M. Efficacy of WideStrike and Bollgard II Cottons Against Bollworm under Insecticide-Sprayed and Non-Sprayed Conditions in North Carolina and Virginia. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

LORENZ, G. M.; COLWELL, K.; LASSITER, R.B.; GREENE, J.; STUDEBAKE, G.; HARDKLE, J.; SHELTON, C. Performance of WideStrike Cotton in Arkansas, 2004-2005. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

MAIA, A. H. N. 2010. Definindo estratégias de manejo da resistência de pragas a toxinas Bt expressas em culturas transgênicas: o papel dos modelos de simulação. Disponível em: <[http://www.cnpma.embrapa.br/down\\_hp/345.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/down_hp/345.pdf)>. Acessado em: 10 de maio de 2012.

SIMS, S. R. Host activity spectrum of the CryIIA *Bacillus thuringiensis* sulsp. Kurstaki protein: effects on Lepidoptera, Diptera, and non-target arthropods. **Southwestern Entomol**, v.22, p.395-404, 1997.

TINDALL, K. V.; LEONARD, B. R.; EMFINGER, K. D. Fall Armyworm survivorship and damage in WideStrike Cotton. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCES, 2006, San Antonio. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 2006.

## CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS (IMPLICAÇÕES PRÁTICAS)

As mudanças recentes ocorridas na cotonicultura brasileira acarretaram um intenso processo de reestruturação produtiva no setor, cuja face mais aparente foi a transferência geográfica da produção, das regiões tradicionais de São Paulo, Paraná e Nordeste, para as novas regiões produtoras no cerrado brasileiro (FERREIRA FILHO, 2003). Esta mudança permitiu a retomada no crescimento da área cultivada e a substituição de um modelo produtivo dependente de mão-de-obra, com baixa produtividade, por um modelo agrícola empresarial de melhor desempenho, em virtude da introdução de cultivares mais produtivas e arquitetura de plantas mais propícia à mecanização total da cultura (BRASIL, 2007).

Nos últimos anos, a lagarta-medede-palmo da soja *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), de maior ocorrência na cultura da soja, vem se destacando como uma praga de grande importância na cultura do algodoeiro, provocando grandes prejuízos, principalmente na região Centro-Oeste do país, os produtores constataram o algodoeiro como sendo uma grande alternativa para rotação sucessiva no mesmo ano com a cultura da soja precoce semeada na primavera-verão (BUSOLI et al., 2011).

Pesquisas em biotecnologia levaram a obtenção de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas tóxicas, entre as quais, a Cry1Ac, oriunda da bactéria de solo *Bacillus thuringiensis* (BRITO, 2000; BOBROWSKI et al., 2003). Em março de 2005, foi liberado comercialmente no Brasil, o algodão geneticamente modificado, denominado Bollgard I<sup>®</sup>, cujas plantas produzem a  $\alpha$ -endotoxina de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, que é patogênica para a maioria das lagartas de lepidópteros (RAMIRO; FARIA, 2006).

Plantas geneticamente modificadas desenvolvidas para resistir a insetos-praga podem potencialmente produzir impactos positivos ao ambiente devido à redução de uso de inseticidas químicos na cultura com os consequentes benefícios associados. Esses benefícios incluem, entre outros, a redução de poluição por resíduos tóxicos no ambiente (solo, água e alimentos ou matéria prima), segurança do trabalhador e possível aumento no controle biológico natural (CAPALBO;

FONTES, 2004). Por outro lado, impactos negativos podem ocorrer devido ao plantio em larga escala desse tipo de plantas, como a redução de inimigos naturais e outras espécies benéficas, aumento de pragas não-alvo, evolução da resistência da praga em relação ao produto do transgene (toxinas ou inibidores de enzimas) e fluxo do transgene de cultivos transgênicos para plantas próximas (geneticamente relacionadas) (FERRY et al., 2006).

No entanto, a partir do conhecimento do complexo de pragas que ocorrem na cultura do algodoeiro, observa-se que a especificidade da toxina Cry1Ac não dispensa a utilização do controle químico. Para atender esta demanda, foram produzidas novas tecnologias Bt para o algodoeiro, que atendessem a um maior espectro de pragas da cultura, como por exemplo o algodão WideStrike, que expressa simultaneamente duas proteínas tóxicas, a Cry1Ac e Cry1F.

O efeito da cultivar de algodoeiro no comportamento e biologia dos insetos-praga é importante para o desenvolvimento de estratégias eficientes dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), evitando o surgimento de populações resistentes à tecnologia, além do que, conhecendo a distribuição vertical de lagartas na planta, pode agilizar e aumentar a confiabilidade do processo de amostragem destes grupos de insetos (FERNANDES et al., 2006).

Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da cultivar transgênica na biologia de *P. includens*, assim como a não-preferência para a alimentação das lagartas. Foi avaliado também a distribuição vertical de lagartas pequenas, médias e grandes na cultivar transgênica FM 975 WS e na sua isolinha convencional FM 993, assim como a preferência em relação à face foliar abaxial e adaxial.

Os resultados obtidos permitiram verificar que a cultivar NuOPAL que expressa a proteína Cry1Ac, não é eficiente para o controle total de *P. includens*, no entanto, pode influenciar na biologia das lagartas, causando um efeito de antibiose, aumentando seu ciclo de vida, o que poderá influenciar no aparecimento de populações resistentes e na teoria do refúgio, que se refere ao uso de uma cultivar convencional suscetível em pelo menos 20% da área total cultivada com a cultivar que expresse a toxina Bt em alta concentração em todos os tecidos da planta (MAIA, 2010), uma vez que as lagartas oriundas de cultivares não-Bt apresentam ciclo de vida, significativamente menor que aquelas lagartas sobreviventes à cultivar Bollgard

I (NuOPAL), não ocorrendo sincronismo de populações de adultos oriundos da cultivar transgênica NuOPAL e respectivas isolinhas convencionais.

Com relação à ação da cultivar WideStrike, que expressa além da proteína tóxica Cry1Ac, expressa também a proteína Cry1F, altamente efetiva para um maior espectro de espécies de lepidópteros pragas de milho, algodoeiro e soja, o que foi comprovado sua eficácia na área comercial da Fazenda Alvorada em Chapadão do Sul, MS, no ano agrícola 2011/2012.

Em relação a não-preferência para a alimentação, as lagartas de 3º instar de *P. includens* preferiram todas as cultivares estudadas, tanto a cultivar transgênica NuOPAL, como as convencionais, o que era de se esperar, pois a transgenia Bt objetiva causar a mortalidade das lagartas, após estas ingerirem tecidos das plantas com concentrações adequadas das proteínas tóxicas Cry para produzir a septicemia no intestino médio das lagartas.

Através dos estudos de distribuição vertical de lagartas de *P. includens* no dossel das plantas, foi possível observar que as lagartas, independente do seu desenvolvimento (tamanho), preferem se localizar nos terços inferior e mediano das plantas, e na face abaxial das folhas, permitindo com este conhecimento, tornar as amostragens mais rápidas e confiáveis pelos produtores de algodão.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cadeia Produtiva do Algodão**. BUAINAIN, M.; BATALHA, M. A. Brasília: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura, 2007.
- BRITO, L. O. **Adaptação de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) a inibidores de proteinases de plantas transgênicas de fumo**. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; ZANETTINI, M. H. B. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, p.843-850, 2003.
- BUSOLI, A. C.; GROGOLLI, J. F. J.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; FUNICHELLO, M.; NAIS, J.; SILVA, E. A. (2011). **Atualidades no MIP algodão no cerrado brasileiro**. In: Tópicos em Entomologia Agrícola IV. Jaboticabal, SP: Gráfica Multipress Ltda. 4: 117-138.
- CAPALBO, D. M. F.; FONTES, E. M. G. **GMO Guidelines Project (algodão Bt)**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 56p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 38).
- FERNANDES, M. G.; SILVA, A. M.; DEGRANDE, P. E.; CUBAS, A. C. Distribuição vertical de lagartas de *Alabama argillacea* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de algodão. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, n. 78, p. 28-35, 2006.
- FERREIRA FILHO, J. B. S.; GAMEIRO, A. H.; CENTOLA, F. C. L.; BALLAMINUT, C. E. C. Avaliação econômica do algodão BOLLGARD no Brasil: Atualização para a safra 2002/2003. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., Goiânia, 2003. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. CD-ROM
- FERRY, N.; MULLIGAN, E. A.; STEWART, C. N.; TABASHNIK, B. E.; PORT, G. R.; GATEHOUSE, A. M. R. Prey-mediated effects of canola on a beneficial, non-target, carabidae beetle. **Trangenic Research**, Netherland, v. 15, p.501-514, 2006.

MAIA, A. H. N. 2010. Definindo estratégias de manejo da resistência de pragas a toxinas Bt expressas em culturas transgênicas: o papel dos modelos de simulação. Disponível em: < [http://www.cnpma.embrapa.br/down\\_hp/345.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/down_hp/345.pdf)>. Acessado em: 10 de maio de 2012.

RAMIRO, Z. A.; DE FARIA, A. M. Levantamento de insetos predadores nos cultivares de algodão Bollgard<sup>®</sup>DP90 e convencional Delta Pine Acala 90. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n.1, p. 119-121, 2006.