

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS (UFGD)  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS (- FCBA)  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

DIFERENÇAS DE EVENTOS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS  
NO CONTROLE DE PRAGAS

Bruno Petelin

Dourados-MS

Mai de 2014

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Bruno Petelin

DIFERENÇAS DE EVENTOS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS NO  
CONTROLE DE PRAGAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Area de Concentração: Entomologia.

Orientador: Dr. Marcos Gino Fernandes

Co-orientador: Dr. Elmo Pontes de Melo

Dourados-MS

Maior de 2014

DIFERENÇAS DE EVENTOS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS NO  
CONTROLE DE PRAGAS

Por

Bruno Petelin

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do  
título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/2014

Prof. Dr.º Marcos Gino Fernandes  
Orientador  
UFGD/FCBA

Dr. Izidro dos santos de Lima Júnio  
IFMS

Prof. Dr. Paulo Rogério Beltramin da  
Fonseca  
ANHAN

Prof. Dr.º Elmo Pontes de Melo  
UFGD

## Biografia do Acadêmico

Bruno Petelin, nascido em 05-09-1990, em Dourados, Mato Grosso do Sul, filho de Gilmar Pereira Petelin e Sônia Maria Silva, cursou o ensino fundamental nas escolas, Escola Municipal Weimar Gonçalves Torres, e Escola Estadual Professora Floriana Lopes, entre Janeiro de 1997 e Dezembro de 2004, cursando o ensino médio na Escola Estadual Professora Floriana Lopes, e Escola Estadual Alicio de Araújo entre Janeiro de 2005 e Dezembro de 2007, O ensino superior fora realizado no Centro Universitário da Grande Dourados UNIGRAN, se formando Engenheiro Agrônomo no ano de 2011. Entre Setembro/2006 a Setembro/2007 foi Bolsista do Programa de Iniciação Científica Júnior, referente à chamada Fundect/CNPq nº 01/2006 Campo Grande MS, e realizou estágio na Embrapa Agropecuária Oeste, na ÁREA DE PISCICULTURA, no período de 02.01.2007 a 07.09.2007. No início de 2012, entrou para a Universidade Federal da Grande Dourados, na Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais no Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Ofereço

A Deus,

Deus é o nosso refúgio e fortaleza, socorro bem presente nas tribulações.

Portanto, não temeremos ainda que a terra se transtorne e os montes se abalem no seio dos mares;

ainda que as águas tumultuem e espumejem e na sua fúria os montes se estremeçam.

Há um rio, cujas correntes alegam a cidade de Deus, o santuário das moradas do Altíssimo.

Deus está no meio dela;

Jamais será abalada;

Deus a ajudará desde antemanhã.

Bramam nações, reinos se abalam;

Ele faz ouvir a sua voz, e a terra se dissolve.

O SENHOR dos Exércitos está conosco;

o Deus de Jacó é o nosso refúgio.

Vinde, contemplai as obras do SENHOR, que assolações efetuou na terra.

Ele põe termo à guerra até aos confins do mundo, quebra o arco e despedaça a lança;

Queima os carros no fogo.

Aquietai-vos e sabeis que eu sou Deus;

Sou exaltado na terra.

O SENHOR dos Exércitos está conosco;

o Deus de Jacó é o nosso refúgio.

(Salmos 46.1-11)

Dedico

Aos meus pais, Gilmar Pereira Petelin e Sônia Maria Silva,

Ao meu Avô João Silva Sobrinho, ao Meu Tio Élio (*in memoriam*),

Ao meu amigo Edvan (*in memoriam*),

À Dona Eula (*in memoriam*),

À Dona Chica (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pela oportunidade de realizar este curso.

À CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida durante o curso.

Ao professor Dr. Marcos Gino Fernandes pela paciência e disponibilidade.

Ao professor Dr. Elmo Pontes de Melo pela orientação, pelo auxílio, oportunidade, paciência e pelos ensinamentos transmitidos durante todo o período.

Aos funcionários do Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN que me proporcionaram condições para a realização desse trabalho.

A minha Mãe, que esteve sempre ao meu lado em um dos momentos mais difíceis da minha vida, que me apoiou, me sustentou, cuidou de mim, me deu todo seu amor e carinho.

Aos amigos Danilo Renato Santiago Santana, Júlio Cezar Correia Fontes de Assis, Guilherme Alencar Oliveira, Carlos Roberto dos Santos Gomes, Barbara Giusseppina Maresciallo, Fernanda Medeiros, pelo companheirismo, trabalho e colaboração para o este trabalho fosse realizado.

SUMÁRIO	Página
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
TÍTULO	
RESUMO GERAL	
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
OBJETIVO GERAL	
HIPÓTESES	
MANUSCRITO I	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	
MATERIAL E MÉTODOS	
RESULTADOS E DISCUSSÃO	
CONCLUSÕES	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
MANUSCRITO II	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	
MATERIAL E MÉTODOS	
RESULTADOS E DISCUSSÃO	
CONCLUSÕES	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	

LISTA DE TABELAS	Página
TABELA 1. Valores dos quadrados médios da análise de variância para número de <i>Spodoptera frugiperda</i> 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a infestação	
TABELA 1. Categorização das escalas para indivíduos (lagartas de <i>S. frugiperda</i> e <i>Chrysodeixis includens</i> ) sobreviventes após cinco dias das realizações dos testes de sobrevivência associados ao seus comprimentos	

LISTA DE FIGURAS	Página
FIGURA 1. Número médio de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada em folhas de híbridos de milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i> , na avaliação 12 horas	
FIGURA 2. Número médio de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada em folhas de híbridos de milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i> , na avaliação 24 horas	
FIGURA 3. Número médio de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada em folhas de híbridos de milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i> , na avaliação 48 horas	
FIGURA 4. Número médio de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada em folhas de híbridos de milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i> , na avaliação 72 horas	
FIGURA 5. Número médio de lagartas <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentada em folhas de híbridos de milho <i>Bt</i> e não <i>Bt</i> , na avaliação 96 horas	

DIFERENÇAS DE EVENTOS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS NO CONTROLE DE  
PRAGAS

## RESUMO GERAL

Um dos principais fatores que comprometem o rendimento e a qualidade da produção de grãos é a incidência de pragas. Para o controle de pragas é possível utilizar métodos físicos, químicos, biológicos e culturais. Recentemente o uso de plantas geneticamente modificadas para controle de pragas têm sido adotado como mais uma técnica pelos produtores. Através de apuradas técnicas de laboratório e com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma nova tática de controle de pragas, com o uso do gene de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), conferindo resistência a planta ao ataque de algumas espécies de lepidópteros. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência larval da *Spodoptera frugiperda* quando alimentada com folhas de híbridos de milho *Bt* TL (Cry 1Ab PAT Syngenta), VIP (VIP3Aa20 Syngenta) e VIP<sub>3</sub>(Cry 1Ab, VIP3Aa20, PAT e mEPSPS Syngenta), e com seu respectivo isogênico não *Bt* (convencional), na presença e ausência de nitrogênio, e em folhas de algodoeiro geneticamente modificados. Os experimentos foram conduzidos em placa de petri onde foi disposta uma folha de milho, e se fez a infestação com lagartas de *S. frugiperda*. As avaliações foram realizadas com 12, 24, 48, 72 e 96 horas após as infestações, quando foram observados os indivíduos mortos e vivos para o posterior cálculo da sobrevivência das lagartas. De acordo com os dados observados o nitrogênio não estimulou o ataque das lagartas nos híbridos de milho, e os milhos transgênicos reduziram significativamente a infestação de lagartas em comparação com o milho convencional. Já os ensaios com algodão foram conduzidos em laboratório, com a oferta de folhas para lagartas neonatas (primeiro ínstar) das espécies, *S. frugiperda* e *Chrysodeixis includens*. As linhagens resistentes testadas foram TwinLink<sup>®</sup> (evento criado a partir dos eventos T304-40 e GHB119 por melhoramento genético clássico, Cry1Ab Cry2Ae PAT ), Coker não modificada (convencional), PHY 440 WS (evento Widestrike<sup>®</sup>, Cry1Ac Cry1F PAT), FM 993 (convencional) e FM 975 WS (evento Widestrike<sup>®</sup>, Cry1Ac Cry1F PAT). As folhas foram coletadas e infestadas nas seguintes datas e respectivas idades das plantas nos vasos (dias após a emergência = DAE): 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140 e 154 DAE. O evento TwinLink<sup>®</sup> ofertado às lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* proporcionou taxa de sobrevivência entre 30% a 50% e no máximo 10% nos diferentes estágios fenológicos do algodoeiro. No evento Coker observou-se sobrevivência superior a 85% e 70%. Já no evento FM 975 WS promoveu a mortalidade total, exceto aos 42 DAE com 10% de sobrevivência para *S. frugiperda*. Houve uma sobrevivência entre 2 a 5% e 5 a 10% para o evento PHY 440 WS, nas avaliações para *S. frugiperda* e *C. includens* respectivamente. Diferindo do evento FM 993 onde a sobrevivência de *S. frugiperda* e *C. includens* sempre foi superior a 80%, exceto aos 56 DAE, com 60% de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* e aos 42 DAE, com 70% de sobrevivência de lagartas de *C. includens*.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As espécies vegetais mais cultivadas no cerrado são as culturas de soja, milho e o algodão. Na sequência da cadeia produtiva, no período de safra as lavouras de algodão quase sempre são estabelecidas após as de cultura de milho e soja. Áreas de soja e algodão cultivadas próximas às de milho apresentam acentuado incremento populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (Smith) por ocasião da maturação do milho (SOARES & VIEIRA, 1998; MARTINELLI et al., 2006; SANTOS, 2007). O mesmo fenômeno pode estar ocorrendo com as espécies *Chrysodeixis includens*, que infestam as lavouras de algodão com maior intensidade quando a soja inicia a finalização do ciclo vegetativo (SANTOS et al., 2010). Segundo Thomazoni et al. (2013), esse fenômeno conhecido como ‘ponte biológica’ ou ‘ponte verde’ nos agroecossistemas do Cerrado, é responsável por favorecer e manter o desenvolvimento populacional de algumas espécies de pragas (especialmente as polífagas), aumentando o nível populacional da praga na safra seguinte.

Dentre as pragas das culturas destaca-se *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) que ocasiona danos desde a emergência até a maturação das plantas (Santos, 1999) e *Chrysodeixis includens* que se alimenta das folhas, e pode causar dano tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva. *S. frugiperda* (Smith), é uma importante praga do algodão (SANTOS, 2011) e do milho (SPARKS, 1979; SILVA, 2000; VALICENTE, 2008), popularmente chamada de lagarta-do-cartucho-do-milho, é um inseto, que no estágio larval alimenta-se de plantas de milho em todas as fases de desenvolvimento, dando preferência por cartuchos de plantas jovens (CRUZ, 1995). Pode causar danos à cultura dependendo de alguns fatores, como o local de plantio e estágio fenológico da planta (BIANCO, 1995; Siloto, 2002). Por ser um inseto que apresenta hábito polífago e alta capacidade de dispersão, no Brasil, ocorre praticamente em todos os estados (PEREIRA, 2007). Na cultura do algodão, a introdução de cultivares de favoráveis ao desenvolvimento de *S. frugiperda* aumentou a sua importância como inseto-praga (DEGRANDE, 1998; SARRO, 2006). De acordo com Gallo et

al. (2002), Miranda et al. (2004), Haddad et al. (2007), Santos, (2011), *S. frugiperda* pode causar danos às plantas de algodão e milho, que ocorrem desde a emergência até a maturação dos frutos. As lagartas em algodoiro cortam as plantas jovens logo acima do coleto, reduzindo o estande da cultura, raspam a epiderme de brácteas, perfuram e danificam os botões florais, flores e maçãs desenvolvidas (SANTOS et al., 2011; THOMAZONI et al., 2013), além de destruir folhas e perfurar hastes na ausência de maçãs (GALLO et al., 2002).

A penetração da lagarta na maçã pode ocasionar a redução na quantidade e qualidade da fibra, aumentando a probabilidade de ocorrência de doenças sob diferentes condições climáticas, ocasionando sérios prejuízos para o produtor. Como ataques severos de *S. frugiperda* na cultura do algodoiro têm sido relativamente recente, seu controle, tem sido feito preferencialmente com inseticidas químicos tentando minimizar os prejuízos provocados, porém, muitas vezes não produz o efeito esperado, o que acarreta o aumento de riscos de contaminação ambiental e a elevação de custos de produção (ANDREWS, 1988; SPARKS, 1979; CRUZ, 2002; FARIAS et al. 2010; MENDES et al., 2011).

Em soja *C. includens* é uma espécie praga que ocasiona grande desfolha. Na cultura do algodoiro, sua importância como lagarta desfolhadora é crescente, especialmente em áreas de cultivo próximas a cultura da soja (SANTOS, 2011).

Há uma hipótese de que o rápido incremento das populações de *C. includens* em algodão seja devido a dispersão de indivíduos adultos da cultura da soja e pelo consumo de néctar de flores de algodão acarretando o aumento da oviposição desses insetos no algodoiro. O controle de *C. includens* e *S. frugiperda* no ambiente de produção tem sido realizado com uso de mistura de inseticidas pela dificuldade de atingir as lagartas nas plantas de algodão. A distribuição das lagartas na porção inferior da planta de algodão dificulta o contato das mesmas com inseticidas, principalmente considerando que as grandes infestações ocorrem após o fechamento da cultura (SANTOS, 2011).

Com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma nova tática de controle de pragas, que consiste nas plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Através de apuradas técnicas de laboratório, um gene de *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*) foi introduzido em plantas de milho e algodão conferindo resistência da planta a algumas espécies de lagartas (FERNANDES, 2003).

O gene introduzido codifica a expressão de proteínas *Bt*, com ação inseticida, efetivas no controle de lepidópteros (LYNCH et al. 1999; BARRY ET AL., 2000; BUNTIN et al., 2001; HUANG et al., 2002). As lagartas, ao se alimentarem do tecido foliar do milho e

algodão geneticamente modificado, ingerem essa proteína, que atua nas células epiteliais do tubo digestivo dos insetos (FERNANDES, 2003). A proteína promove a ruptura osmótica dessas células, causando a morte dos insetos, antes que consigam causar danos à cultura (GILL et al., 1992; PIETRANTONIO et al., 1993; GILL, 1995; MEYERS et al. 1997).

As principais vantagens do uso das plantas geneticamente modificadas são: aumento na produção (BETZ et al., 2000); menores níveis de micotoxinas (DOWD, 2000) e redução na aplicação de inseticidas (WANG et al., 2004; ROMEIS et al., 2006), principalmente os, de largo espectro, favorecendo a manutenção de inimigos naturais (GOULD, 1998), que auxiliam no controle de pragas e contribuem para retardar a evolução da resistência (MASCARENHAS; LUTTRELL, 1997).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, K. L. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Florida Entomologist**, Gainesville, v.71, n.4, p.630-653, 1988

BARRY, B. D.; DARRAH, L. L.; HUCKLA, D. L.; ANTONIO, A. Q.; SMITH, G. S.; O'DAY, M.H. Performance of transgenic corn hybrids in Missouri for insect control and yield. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 93, n. 3, p. 991-999, 2000.

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

BIANCO, R. 1995. Construção e validação de planos de amostragem para o manejo da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho. **Tese de doutorado**, ESALQ/USP, Piracicaba, 113p.

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

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (**Embrapa Milho e Sorgo**. Circular Técnica, 21) 45 p. 1995.

DEGRANDE, P. E. Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, **UFMS**, 60p. 1998.

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

endotoxins with the insect midgut epithelium. In: THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. (Ed.) **Parasites and pathogens of insects**. New York: Academic Press, 1993. v. 2, cap. 3, p. 55-79.

FARIAS, J. R.; COSTA, E. C.; BIGOLIN, M.; NETO, A. B.; RODRIGUES, R. B.; PINTO, F. F.; E HUTH, C. Efeito do Milho *Bt Cry1Ab* e Inseticidas em Tratamento de Sementes sobre o Número de Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo 2010.

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

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

GILL, S. S. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 90, n.1, p. 69-74, 1995.

GILL, S. S.; COWLES, E. A.; PIETRANTONIO, P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 615-636, 1992.

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

HADDAD G.; ARAÚJO E. S.; AL GAZI A. D. F.; BUSOLI A. C. Avaliação de resistência entre variedades de algodão e influência do regulador de crescimento. **Arq Inst Biol** 69: 113-198. 2007.

HUANG, F.; BUSCHMAN, L. L.; HIGGINS, R. A.; LI, H. Survival of Kansas dipel-resistant European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt and non-Bt corn hybrids. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 95, n. 3, p. 614-621, 2002.

LYNCH, R. E.; WISEMAN, B. R.; PLAINSTED, D.; WARNIK, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm. **Journal Economic Entomology**, College Park, v. 92, n. 1, p. 246-252, 1999.

MARTINELLI S, MONTRAZI R B, ZUCCHI M I, SILVA-FILHO M C Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **J Econ Entomol** 99: 519-526, 2006.

MASCARENHAS, V. J.; LUTTRELL, R. G. Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Environmental Entomology**, v.26, n. 4, p. 939-945, 1997.

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

MEYERS, H. B., JOHNSON, D. R.; SINGER, T. L.; PAGE, L. M. Survival of *Helicoverpa zea* Boddie on Bollgard® cotton. In: BELTWISE COTTON CONFERENCE, 1997, New Orleans. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 1997. v.2, p.1269-1271.

MIRANDA E. J.; SANTOS J. B.; PEDROSA M. B.; ALENCAR A. R. Manejo de lagartas de *Spodoptera*. In: SILVA J. L.; PEDROSA M. B., (eds) Resultados de pesquisa com a cultura do algodão no Oeste e Sudoeste da Bahia: safra 2003/2004. Campina Grande, **Embrapa Algodão**, 112p. 2004.

PEREIRA, L. G. B. Táticas de controle da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais: **Dossiê Técnico**, 28 p. 2007.

PIETRANTONIO; P. V.; FEDERICI, B. A.; GILL, S. S. Interaction of *Bacillus thuringiensis* ROMEIS, J; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2006.

SANTOS W J Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro, p.403-478. In: Freire E. C. (ed) Algodão no cerrado do Brasil. Brasília, **Associação Brasileira dos Produtores de Algodão**, 918p. 2007.

SANTOS, K. B. DOS; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, W. J. DOS; NEVES, P. M. O. J.; SANTOS R. B. DOS, Pest Management, Caracterização dos Danos de *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a Estruturas de Algodoeiro Londrina, PR, Brasil; **Neotropical Entomology**, 2010.

SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: Freire, E. C. Algodão – No Cerrado do Brasil. 2 ed. Aparecida de Goiânia: **Associação Brasileira dos Produtores de Algodão**, 1082p. p.495-566, 2011.

SANTOS, W. J. Monitoramento e controle de pragas do algodoeiro. In: CIA, E.; FREIRE, E.C.; SANTOS, W.J. (Ed.). **Cultura do algodoeiro**. Piracicaba: POTAFOS, 1999. p. 133-179.

SARRO, F. B. Biologia comparada de *Spodoptera frugiperda* ( J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho e em cultivares de algodoeiro. 109p. **Tese** (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

SILOTO, R. C. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. 2002. 93 p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências – Área de concentração: Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, M. T. B. Manejo de insetos nas culturas de milho e soja. In: Guedes, J. C.; Costa, I.D.; Castiglioni, E. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: **UFSM/CCR/DFS**, 248p. p. 169-200. 2000.

SOARES J J, VIEIRA R M *Spodoptera frugiperda* ameaça a cotonicultura brasileira. Campina Grande, **Embrapa-CNPA**, 13p. 1998.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armaworm. **The Florida Entomologist**, Gainesville, v.62, n.2, p.82-87, 1979.

THOMAZONI1, D.; SORIA1, M. F.; PEREIRA, E. J. G.; DEGRANDE, P. E. *Helicoverpa armigera*: perigo iminente aos cultivos de algodão, soja e milho do estado de Mato Grosso, Circular Técnica n°5, **Instituto Mato-grossense do Algodão (IMAmt)**, Julho de 2013.

VALICENTE, F. H. Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com *Bacillus thuringiensis*. Sete Lagoas: Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 9p. (**EMBRAPA/CNPMS**, Circular Técnica, 105), 2008.

WANG, C. L.; LIN, F. C.; LIN, C. Y. Insect-resistant transgenic plants and the environmental impact assessment - special concern for insects. **Plant Protection Bulletin**, v. 46, n. 3, p. 181-209, 2004.

## OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência larval da *Spodoptera frugiperda* quando alimentada com folhas de híbridos de milho *Bt* TL, VIP e VIP<sub>3</sub>, e com seu respectivo isogênico não *Bt* (convencional), na presença e ausência de adubação nitrogenada, e avaliar a sobrevivência larval de *S. frugiperda* e *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de diferentes eventos de algodoeiro geneticamente modificado resistente a lepidópteros.

## HIPÓTESES

Há diferença entre eventos de plantas transgênicas de milho no controle de lagartas.

Há efeito da adubação nitrogenada sob os diferentes eventos de plantas transgênicas de milho no controle de lagartas.

Existem diferenças de plantas transgênicas de algodão no controle de lagartas.

## CAPÍTULO I

### **EFICIÊNCIA DE MILHO TRANSGÊNICO, RESISTENTE À LAGARTA *Spodoptera frugiperda*, SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA.**

**RESUMO:** Um dos principais fatores que comprometem o rendimento e a qualidade da produção de grãos de milho é a incidência de pragas. Dentre as principais, podemos destacar a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* como uma das mais importante praga na cultura do milho no Brasil. Através de apuradas técnicas de laboratório e com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma nova tática de controle de pragas, um gene de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) foi introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo resistência a planta ao ataque de algumas espécies de lepidópteros. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência larval da *S. frugiperda* quando alimentada com folhas de híbridos de milho *Bt* TL, VIP e VIP<sub>3</sub>, e com seu respectivo isogênico não *Bt* (convencional), na presença e ausência de nitrogênio. Os experimentos foram conduzidos em placa de Petri onde foi disposta uma folha de milho, onde se fez a infestação com lagartas de *S. frugiperda*. As avaliações foram realizadas com 12, 24, 48, 72 e 96 horas após as infestações, quando foram observados os indivíduos mortos e vivos para o posterior cálculo da sobrevivência das lagartas. De acordo com os dados observados o nitrogênio não estimulou o ataque das lagartas nos híbridos de milho e os milhos transgênicos reduziram significativamente a infestação de lagartas em comparação com o milho convencional.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, desfolha, *Spodoptera frugiperda*, produtividade.

**THE EFFICIENCY OF THE GM CORN, RESISTANT TO FARMWORM *Spodoptera frugiperda*, SUBMITTED TO DIFFERENT NITROGEN FERTILIZATION.**

**ABSTRACT:** Um of the mains factors that compromise the yield and the quality of the production of corn seed is the incidence of pests. Among all, we can highlight the “lagarta-do-cartucho”, *Spodoptera frugiperda* as one of the most important pest of the corn seed culture in Brazil. Beyond the lab techniques and with the advent of biotechnology, it was developed a new tactic of pest’s control, and a gene of the *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) was introduced in corn plants, giving birth to the Genetic Modified corn, that gave to the plant resistance to the attack of some species of lepidopteron. The purpose of this paperwork was to evaluate the survive of the *S. frugiperda* larva when fed with leaves of corn hybrids *Bt* TL, VIP and VIP<sub>3</sub>, and with its respective isogenic non *Bt* (conventional), in presence or without nitrogen. The experiments were conducted in Petri dishes, where it was placed a small amount of corn plant, that was infested with *S. frugiperda* caterpillar. The evaluations was performed between 12, 24, 48, 72 and 96 hours after the infestations, and during this time it was observed the live and dead organisms, for posterior calculus of the caterpillar survivor. According to the observed information the nitrogen did not stimulated the attack of the caterpillar on the hybrids corn and the GM corn reduced significantly the infestation of the caterpillar compared with the conventional corn.

**Keywords:** *Zea mays*, defoliation, *Spodoptera frugiperda*, productivity.

## INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) se destaca por ser um dos produtos agrícolas mais importantes do mundo, é um dos principais cereais consumido no Brasil, sendo cultivado em quase todo país (FRANCO et al., 2012) com produção de aproximadamente 77 milhões de toneladas, em uma área de 15 milhões de hectares plantados (CONAB, 2013).

O Brasil é o terceiro produtor mundial de milho, estando a sua frente apenas os Estados Unidos e a China, no entanto a produtividade nacional é baixa. A média de rendimento (aproximadamente 5 t/ha) é de menos de um terço da norte-americana e cerca de metade da Argentina (FNP, 2013).

São diversos os fatores responsáveis pelas baixas produtividades; um deles deve-se ao fato do milho está presente na grande maioria das propriedades agrícolas do Brasil, tanto em propriedades que se emprega tecnologia, com elevada produtividade; bem como nas pequenas onde está como cultura de subsistência, com baixa utilização de tecnologia (SILOTO, 2002).

As pragas também têm elevada participação, principalmente nos últimos anos com o cultivo de milho “safrinha”, que oferece condições para a continuidade e desenvolvimento das pragas devido à permanência da planta de milho na área, praticamente durante todo ano. Dentre as pragas mais importantes do milho destaca-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada a principal praga desta cultura no Brasil (CRUZ, 1993).

O manejo desta praga se baseia no uso de produtos químicos tentando minimizar os prejuízos provocados, muitas vezes, não produz o efeito esperado, o que acarreta o aumento de riscos de contaminação ambiental e a elevação de custos de produção (MENDES et al., 2011).

O uso de plantas transgênicas contendo genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner que expressam a proteína *Bt* têm sido amplamente incorporados em espécies vegetais cultivadas, sobretudo na cultura do milho. Essa tecnologia empregado junto com a adubação nitrogenada pode proporcionar a manutenção de populações de insetos-praga abaixo do nível de dano econômico e assim reduzir a utilização de produtos químicos (FRANCO et al., 2012).

Neste contexto o objetivo deste trabalho é avaliar sobrevivência larval da *S. frugiperda* quando alimentada com híbridos de milho *Bt* e não *Bt*, na presença e ausência de nitrogênio.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN, Dourados, Mato Grosso do Sul, no período de 10 de Janeiro (preparo dos canteiros) a 25 de Maio de 2013. As plantas de milho foram cultivadas em casa de vegetação, enquanto que os biotestes de sobrevivência e desenvolvimento larval de *S. frugiperda* foram conduzidos em laboratório em sala climatizada.

Os milhos foram cultivados em canteiros preenchidos com solo Latossolo Vermelho Distroférico, coletado na profundidade de 0–30 cm, cujos resultados das análises química e física de acordo com EMBRAPA (1997), foram os seguintes, em  $\text{mmol}_c \text{dm}^{-3}$ : 1,6 (K), 11,9 (Al), 17,9 (Ca), 7,7 (Mg), 89 (H+Al), 27,2 (SB) e 116,2 (T); em  $\text{mg dm}^{-3}$ : 22,8 (M.O.) e 1 (P); pH em  $\text{H}_2\text{O}$ : 5,1; pH em  $\text{CaCl}_2$ : 4,0; em  $\text{g kg}^{-1}$ : (245,30)  $\text{SiO}_2$ , (0,32)  $\text{P}_2\text{O}_5$ , (10,21)  $\text{TiO}_2$ , (255,40)  $\text{Fe}_2\text{O}_5$ , (272,16)  $\text{Al}_2\text{O}_5$ , 760 (argila), 90,9 (silte), 89,2 (areia grossa), 60,2 (areia fina), em  $\text{g cm}^{-3}$ : 1,22 (densidade do solo) e 2,08 (densidade de partículas); em  $\text{cm}^3 \text{dm}^{-3}$ : 416 (volume total de poros).

A correção da acidez do solo deu-se pelo método da saturação de bases (70%), adicionando-se e homogeneizando-se a quantidade de calcário dolomítico determinada para um volume conhecido do substrato. Da mesma forma, fez-se a adubação de macro e micronutrientes neste substrato, de acordo com a recomendação de Novais et al., 1991, para ensaios em casa de vegetação.

Após o período de 21 dias foi realizada a semeadura do milho, permitindo assim uma boa incubação do corretivo e dos fertilizantes no substrato. Logo após a emergência do milho, foram efetuadas adubações nitrogenadas nos estádios V1–V2 utilizando como fonte de nitrogênio a ureia (45% de N) e totalizando 200 kg de uréia. O teor de umidade dos canteiros foi mantido ocupando-se com água 60% do volume total de poros, calculado a partir dos valores de densidade do solo e de partículas (EMBRAPA, 1997). A semeadura do milho (tratamentos) foi realizada no dia 25/04/2013, posicionando as sementes de milho 5cm centímetro de profundidade.

Os estudos de oferta de folhas dos diferentes híbridos de milho resistentes a *Spodoptera frugiperda* foram conduzidos em laboratório. Para esse ensaio, sempre foi coletada a última folha, ou seja, a mais nova das plantas cultivadas em casa de vegetação e ofertadas para lagartas neonatas (primeiro ínstar) de *S. frugiperda*. Os híbridos de milho resistentes a lepidópteros testados foram: TL (evento criado a partir da combinação Bt11

resistente a inseto (RI) e tolerante a herbicida (TH) que expressam a toxina Cry 1Ab PAT Syngenta), VIP (evento criado a partir da combinação MRI 162 Bt resistente a inseto (RI) que expressam a toxina VIP3Aa20 Syngenta),VIP<sub>3</sub> (evento criado a partir da combinação Bt11, MRI 162 e GA21 resistente a inseto (RI) e tolerante a herbicida (TH) que expressam a toxina Cry 1Ab, VIP3Aa20, PAT e mEPSPS Syngenta).

Sendo assim o estudo foi constituído de: oferta de folha de milho não modificado (convencional), folha de milho transgênico (TL), (VIP) e (VIP<sub>3</sub>) com presença e ausência de nitrogênio à lagartas de *S. frugiperda*. No dia da infestação, as folhas foram coletadas, lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 1% e enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram postas para secar sobre folhas de papel.

O experimento foi conduzido em placa de Petri (15 cm de diâmetro) onde foi disposta uma folha de milho (aprox. 9 cm<sup>2</sup>), onde se fez a infestação com 8 lagartas neonatas de *S. frugiperda*, identificando-se nas parcelas as variedades de milho *Bt* e não *Bt* com presença e ausência de nitrogênio e a data da infestação, cada tratamento foi constituído de 4 repetições. Posteriormente, os ensaios permaneceram em salas climatizadas, com temperatura de 25° C ± 2° C, umidade relativa 70%, e fotofase de 12 horas (PRATISSOLI et al., 2005).

As lagartas neonatas de *S. frugiperda* foram obtida da criação massal do Laboratório de Entomologia do Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN. A infestação era feita em até 24 horas após a eclosão. Neste de até 24 horas, as lagartas eram mantidas em dieta artificial.

As avaliações foram realizadas com 12, 24, 48, 72 e 96 horas após as infestações, quando foram observados os indivíduos mortos e vivos para o posterior cálculo da sobrevivência.

$$\% \text{Eficiência} = \left\{ \left[ \frac{\text{Testemunha}^1 - \text{Tratamento}^2}{\text{Testemunha}} \right] \right\} \times 100$$

<sup>1</sup>Número de lagartas vivas na testemunha

<sup>2</sup>Número de lagartas vivas no tratamento

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado no esquema fatorial 4 x 2 com quatro repetições, os dados coletados foram submetidos à análise de

variância e sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa estatístico Sisvar 5.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados obtidos observamos que a adubação nitrogenada não influenciou o ataque da *S. frugiperda* (Tabela 1). Esses resultados são semelhantes aos observados por Sampaio et al., 2007, que também verificaram que não houve alteração dos danos provocadas por *S. frugiperda*, em diferentes doses de N aplicado na forma de ureia. Bortoli et al., 2005, observaram esse mesmo comportamento em relação as doses de nitrogênio sobre os danos causados por *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) na cultura do sorgo.

Mesmo sabendo-se que a expressão de proteínas inseticidas nas plantas podem variar de acordo com o ambiente (MOAR et al., 2008), no presente estudo não verificamos essa alteração, no que refere-se ao controle. Tal fato pode estar relacionado a quantidade de proteína inseticida produzida na planta que, as vezes, mesmo produzindo quantidades diferentes a planta ainda consegue controlar o ataque da praga (HUTCHISON; STORER, 2010).

TABELA 1. Valores dos quadrados médios da análise de variância do experimento para número de *S. frugiperda* 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a infestação. Dourados, MS. 2013.

Fator de variação	G.L	12	24	48	72	96
Híbrido	3	-	-	4,60*	6,15*	7,13*
Nitrogênio	1	-	-	0,03 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
Híb*Nit	3	-	-	0,39 <sup>ns</sup>	0,16 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
Resíduo	16	-	-	0,25	0,11	0,01
Total	23					
C.V(%)		-	-	8,00	3,37	8,25

\* Significativo a 5 % pelo teste de F da análise de variância. ns: não significativo pelo teste de F da análise de variância.

Por meio da interpretação dos dados amostrados (Figura 1 e 2), não houve redução do número de lagartas de *S. frugiperda* nas avaliações de 12 e 24 horas entre as variedades convencionais e transgênicas em folhas de milho ofertadas às lagartas. Mendes et al., 2011, relataram menores índices de sobrevivência de larvas de *S. frugiperda* nas primeiras 48 horas de alimentação, e durante toda fase larval, na maioria dos híbridos de milho Bt que expressam a toxina Cry 1A(b), em comparação ao milho não Bt. Pode ser observado nos dados que as

plantas geneticamente modificadas que expressam a toxina Cry 1Ab PAT, VIP3Aa20, Cry 1Ab, VIP3Aa20, PAT e mEPSPS não causam efeito direto, quando a lagarta entra em contato imediato com a toxina Cry, isso demonstra que a planta Bt tem ação inseticida após 24 horas.

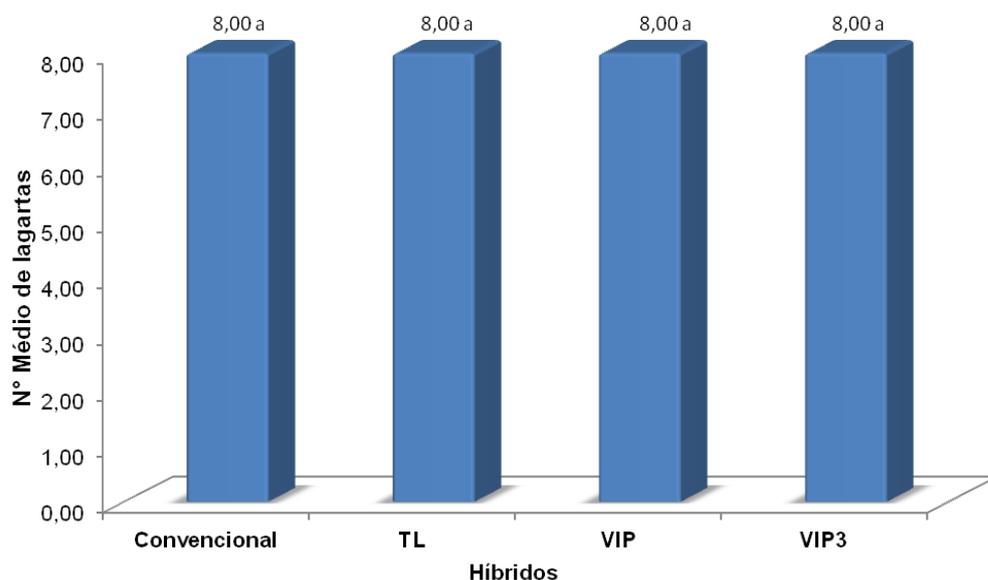


FIGURA 1. Número médio de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt, na avaliação 12 horas. Dourados-MS, 2013.

Médias seguidas de letras iguais, no gráfico, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

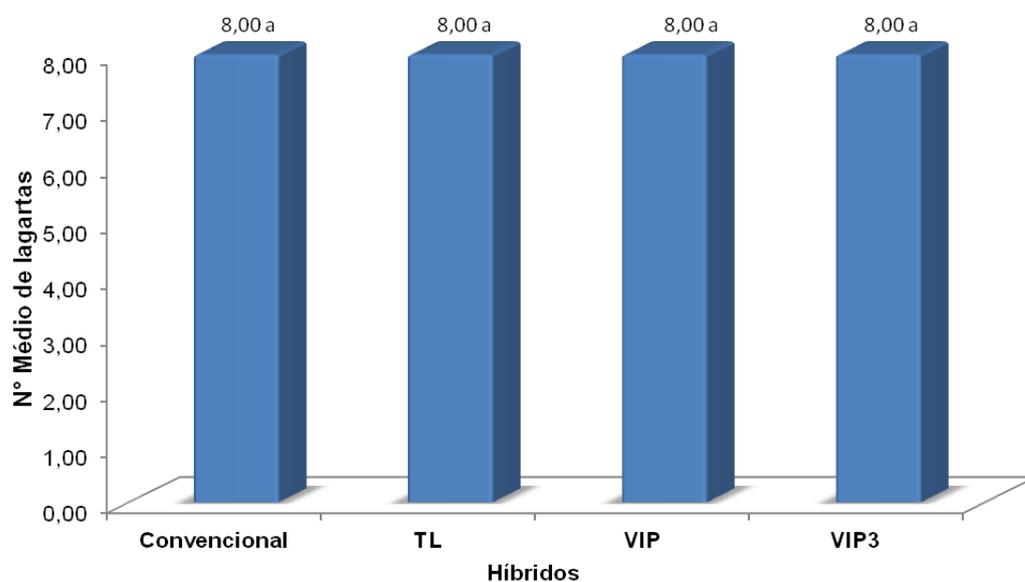


FIGURA 2. Número médio de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt, na avaliação 24 horas. Dourados-MS, 2013.

Médias seguidas de letras iguais, no gráfico, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nas avaliações de 48, 72 e 96 horas os tratamentos com maior mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* foi observado nos milhos transgênicos TL, VIP e VIP<sub>3</sub>, respectivamente, em comparação ao milho convencional (Figura 3, 4 e 5).

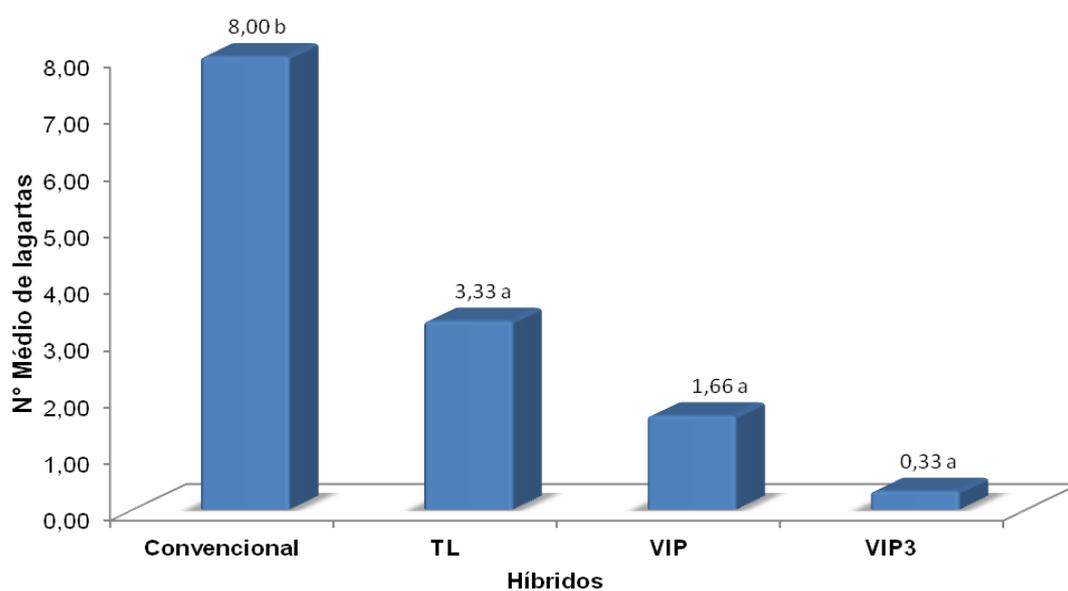


FIGURA 3. Número médio de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt, na avaliação 48 horas. Dourados-MS, 2013.

Médias seguidas de letras iguais, no gráfico, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

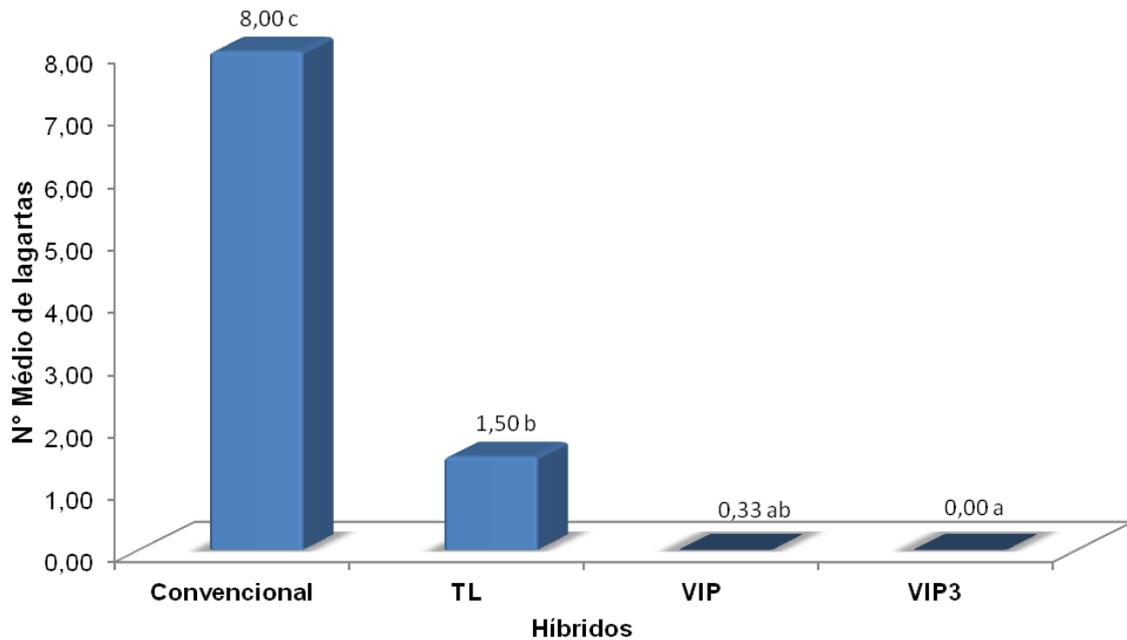


FIGURA 4. Número médio de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt, na avaliação 72 horas. Dourados-MS, 2013.

Médias seguidas de letras iguais, no gráfico, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

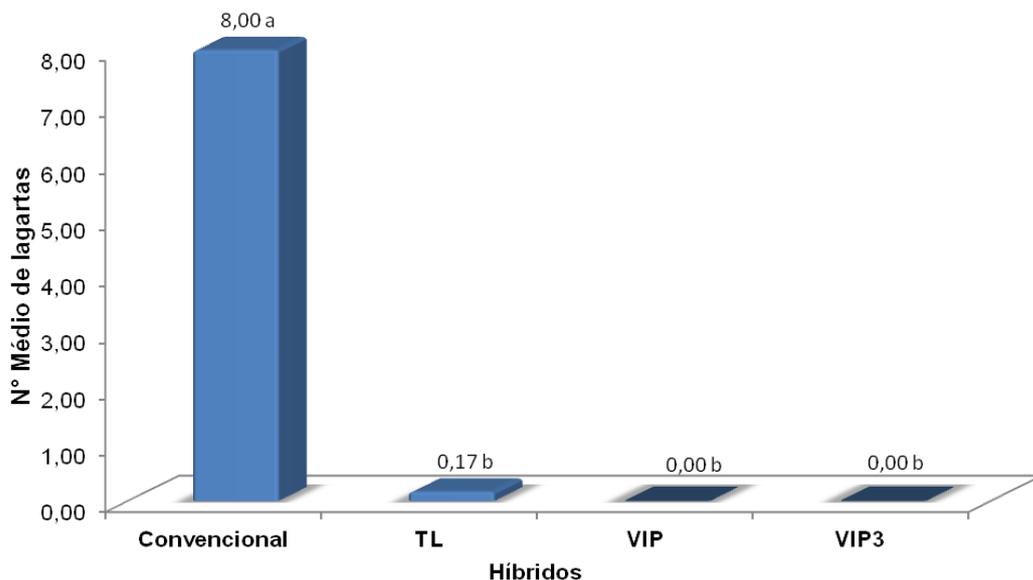


FIGURA 5. Número médio de lagartas *Spodoptera frugiperda* alimentada com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt, na avaliação 96 horas. Dourados-MS, 2013.

Médias seguidas de letras iguais, no gráfico, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para sobrevivência das larvas da *S. frugiperda* após 72 horas (Figura 4) foi significativamente maior no híbrido de milho Bt TL, em comparação aos seus respectivos isogênicos Bt, exceto para VIP houve sobrevivência larval com 72 horas mais não houve diferença estatística em comparação ao VIP<sub>3</sub>. Dutton et al. (2005) constataram menor sobrevivência de larvas de *Spodoptera littoralis* (Biosduval) (Lepidoptera: Noctuidae) no milho Bt N4640 Bt, (Syngenta, Stein, Suíça), nos últimos ínstaes. Segundo os autores, larvas nos primeiros ínstaes são mais sensíveis às toxinas Bt em razão das alterações na atividade específica de preteases no suco intestinal. Keller et al., 1996, relataram que o suco intestinal dos últimos ínstaes de *S. littoralis* tem alta atividade proteolítica, capaz de degradar completamente a proteína Cry 1C.

Lynch et al., 1999, observaram que para os híbridos de milho Bt houve um menor consumo das folhas pelas larvas de *S. frugiperda*, em comparação ao consumo de folhas de milho não Bt, isso demonstra que, após primeira alimentação, a larva reduz a alimentação nas folhas de milho Bt. Dutton et al., 2005, relataram que as toxinas Bt são deterrentes para as larvas de lepidópteros, e essas larvas são capazes de evitar plantas com toxinas Bt em caso de existência de áreas de refúgio próximas. No entanto, segundo esses autores, as larvas nos primeiros ínstaes são mais sensíveis aos efeitos da toxina, o que reduz a migração de larvas do milho Bt para o não Bt. Isso mostra que, além do efeito direto da toxina nas larvas, há o efeito indireto de redução da alimentação.

Ao se comparar os híbridos, verificaram-se intensidades de dano significativamente diferentes, para o tratamento com híbrido inteiramente convencional. Os tratamentos transgênicos, como esperado, apresentou a menor intensidade de dano. De acordo com Soberón et al. (2009), a toxina Bt é expressa continuamente nos tecidos da planta, o que explica o eficácia de controle dessa tecnologia.

Sendo assim, podemos inferir que a área de refúgio tradicional, onde somente há milho não transgênico, haverá maior probabilidade de sobrevivência e multiplicação da lagarta-do-cartucho, e a praga poderá completar vários ciclos durante o ciclo da cultura. Outra observação importante, refere-se ao de que as lagartas apresentam não preferência para alimentação em milho Bt quando expostas ao contato físico com o hospedeiro (Mendes et al., 2011). As toxinas Bt são deterrentes para as larvas de lepidópteros, e essas larvas podem evitar plantas com toxinas Bt quando existem áreas de refúgio próximas. Contudo, os primeiros ínstaes das larvas são mais sensíveis aos efeitos da toxina, o que reduz a migração de larvas do milho Bt para o não Bt (Dutton et al., 2005).

As médias de produtividade dos tratamentos, dados não apresentados, com esses híbridos não diferiram significativamente entre si, devido a forma de avaliação do experimento.

## CONCLUSÕES

A utilização dos híbridos de milho Bt, contribui de forma significativa na redução dos danos ocasionados por *Spodoptera frugiperda*.

A utilização de milho transgênico deve ser considerada como mais uma prática no manejo integrado de pragas na cultura do milho, desde que sejam utilizadas áreas de refúgio.

Para o caso da adubação nitrogenada no milho não houve efeito de nitrogênio na sobrevivência das lagartas de *S. frugiperda*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL-ANUÁRIO DA AGRICULTURA. **Consultorias e Agroinformativos**. São Paulo: FNP, 2013. p. 431.

BORTOLII, S.A.; DÓRIA, H.O.S.; ALBERGARIA, N.M.M.S.; Botti, M.V. Aspectos biológicos e dano de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 257-263, mar-abr. 2005.

CONAB. 2013. Companhia Nacional de Abastecimento, **Décimo Primeiro Levantamento Safra 2012/2013**. Brasília. p. 1-28.

CRUZ, I. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho: principais pragas e seu controle**. Brasília: EMBRAPA-SPI, **documentos**, 204p. 1993.

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

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.114, p.161-169, 2005  
EMBRAPA. **Manual de método de análise de solo**. Rio de Janeiro, 2. ed. 1997. 212p.

FRANCO, R.; MARTIN, T.N.; POTRICH, M.; VARGAS, L.; SARTOR, L. **Danos causados por *Spodoptera frugiperda* SMITH e *Helicoverpa zea* BOD. (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho submetidos a doses de nitrogênio**. In: II CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UTFPR – CÂMPUS DOIS VIZINHOS, 2012, Paraná. **Resumos...** Paraná: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2012. p.62-66.

KELLER, M.; SNEH, B.; STRIZHOV, N.; PRUDOVSKY, E.; REGEV, A.; KONCZ, C.; SCHELL, J.; ZILBERSTEIN, A. Digestion of delta-endotoxin by gut proteases may explain

reduced sensitivity of advanced instar larvae of *Spodoptera littoralis* to Cry1C. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Ramat Aviv, ISR, v. 26, n. 4, p. 365-373, 1996.

LYNCH, R.E.; WISEMAN, B.R.; PLAISTED, D.; WARNICK, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, CO, v. 92, n.1, p. 246-252, 1999.

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

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

MOAR, W.; ROUSH, R.; SHELTON, A.; FERRÉ, J.; MACHINTOSH, S.; LEONARD, B. R.; ABEL, C. Field-involved resistance to Bt toxins. **Nature Biotechnology**. New York, v. 26. P. 1072-1074, 2008.

NOVAIS, R.F.; NEVES, J.C.L.; BARROS, N.F. (Ed.). **Métodos de pesquisa em fertilidade do solo**. Brasília, DF: Embrapa, 1991. 189-253p. 3v.

PRATISSOLI, D.; VIANNA U. R.; REIS E. F DOS.; ANDRADE G. S.; SILVA A. F. DA. Influência da densidade de ovos de *Spodoptera frugiperda* em alguns aspectos biológicos de três espécies de *Trichogramma*, **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.4, n.1, p.1-7, 2005

SAMPAIO, H.N.; BARROS, M.F.B.; OLIVEIRA, J.V.; LIMA, F.S.; PEDROSA, E.M.R. Efeito de doses de nitrogênio e potássio nas injúrias provocadas por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, PE, UFRPE v. 2, n. 3, p. 219-222, jul-set. 2007.

SILOTO, R.C. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia), ESALQ/USP, Piracicaba. 92p. 2002.

SOBERÓN, M.; GILL, S.S.; BRAVO, A. Signaling versus punching hole: how do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells? **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.66, p.1337-1349, 2009

## CAPÍTULO II

### **SOBREVIVÊNCIA E DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *Spodoptera frugiperda* E *Chrysodeixis includens* ALIMENTADAS COM FOLHAS DE ALGODOEIRO GENETICAMENTE MODIFICADO PARA RESISTENTES A LEPDÓPTEROS**

**RESUMO:** A cultura do algodão pode abrigar uma vasta gama de pragas. Dentre as pragas que atacam folhas, botões florais e maçãs, encontram-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda*, e a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens*. Já se encontra liberada a comercialização e cultivo, de cultivares de algodoeiros transgênicos que expressam proteínas inseticidas obtidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) capaz de produzir proteínas cristalinas que causam a morte de muitos insetos, principalmente lepidópteros. Objetivou-se avaliar a sobrevivência larval de *S. frugiperda* e *C. includens* alimentadas com folhas de algodoeiro geneticamente modificados resistentes a lepidópteros. Os ensaios foram conduzidos em laboratório, com a oferta de folhas para lagartas neonatas (primeiro ínstar) das espécies, *S. frugiperda* e *C. includens*. Para tal, sempre foi coletada a folha expandida, localizada no quinto nó de cima para baixo das plantas. As linhagens resistentes testadas foram TwinLink (evento criado a partir dos eventos T304-40 e GHB119 por melhoramento genético clássico), Coker não modificada (convencional), PHY 440 WS (evento Widestrike), FM 993 (convencional) e FM 975 WS (evento Widestrike). As folhas foram coletadas e infestadas nas seguintes datas e respectivas idades das plantas nos vasos (dias após a emergência = DAE): 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140 e 154 DAE. O evento TwinLink ofertado às lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* proporcionou taxa de sobrevivência entre 30% a 50% e no máximo 10% nos diferentes estágios fenológicos do algodoeiro. No evento Coker observou-se sobrevivência superior a 85% e 70%. Já no evento FM 975 WS promoveu a mortalidade total, exceto aos 42 DAE com 10% de sobrevivência para *S. frugiperda*. Houve uma sobrevivência entre 2 a 5% e 5 a 10% para o evento PHY 440 WS, nas avaliações para *S. frugiperda* e *C. includens* respectivamente. Diferindo do evento FM 993 onde a sobrevivência de *S. frugiperda* e *C. includens* sempre foi superior a 80%, exceto aos 56 DAE, com 60% de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* e aos 42 DAE, com 70% de sobrevivência de lagartas de *C. includens*.

**Palavras-chave:** *Gossypium hirsutum*, desfolha, *Spodoptera frugiperda*, *C. includens*, Bt.

**LARVAL SURVIVAL AND DEVELOPMENT OF *Spodoptera frugiperda* And  
*Chrysodeixis includens* FED LEAVES WITH COTTON GENETICALLY MODIFIED  
FOR RESISTANT LEPDÓPTEROS**

**ABSTRACT:** The cultivation of cotton can harbor a wide range of pests. Among the pests that attack leaves, buds and apples, are the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of the cartridge, and the caterpillar-false-medideira *Chrysodeixis includens*. Already released the marketing and cultivation of transgenic cotton cultivars expressing insecticidal proteins derived from *Bacillus thuringiensis* (Bt) capable of producing crystal proteins that cause the death of many insects, especially moths. This study aimed to evaluate the survival of larval *S. frugiperda* and *C. includens* fed with genetically modified cotton sheets resistant to Lepidoptera. The tests were conducted in the laboratory, with the offer of leaves to neonate larvae (first instar) species, *S. frugiperda* and *C. includens*. To this end, when expanded leaf was collected, located at the fifth node from above the plants. The tested strains were resistant TwinLink (event created from the events T304 - 40 and GHB119 by conventional breeding), Coker unmodified, PHY 440 WS (WideStrike event), FM 993 (event) and FM 975 WS (WideStrike event). The leaves were collected and infested the following dates and respective ages of the plants in pots ( days after emergence = DAE ) : 28 , 42 , 56 , 70 , 84 , 98 , 112 , 126 , 140 and 154 DAE . The event offered TwinLink to fall armyworm and *C. includens* provided survival rate between 30 % to 50 % and at most 10 % in different growth stages of cotton. In the event Coker observed above 85% and 70% survival. You FM 975 event promoted WS total mortality, except at 42 DAE with 10% survival for *S. frugiperda*. There was a survival between 2 and 5 % and 5 to 10 % for the 440 WS PHY events, the evaluation for *S. frugiperda* and *C. includens* respectively. Differing from the FM 993 event where the survival of *S. frugiperda* and *C. includens* was always greater than 80 %, except at 56 DAE, with 60 % survival of fall armyworm and 42 dae, with 70 % survival larvae of *C. includens*.

**Keywords:** *Gossypium hirsutum*, defoliation, *Spodoptera frugiperda*, *C. includens*, productivity.

## INTRODUÇÃO

A cultura do algodão é hospedeira de um complexo de pragas que pode ocasionar danos às raízes, caule, folhas, botões florais, flores, maçãs, sementes e fibras (GALLO et al., 2002; SANTOS, 2011). Os níveis populacionais dessas pragas variam, e infestações elevadas provocam sérios prejuízos à cultura. Sendo assim, as táticas de controle (cultural, químico, comportamental, genético, biotecnológico e biológico) do Manejo Integrado de Pragas (MIP) quando bem aplicadas são importantes nas Boas Práticas Agrícolas e no sucesso do controle. O uso do MIP tem aumentado devido à grande demanda de conservação ambiental e economicidade da cotonicultura, além de contribuir para a manutenção e sustentação de antigas e novas tecnologias de controle de pragas à disposição dos produtores (DEGRANDE, 2000; GALLO et al., 2002).

Atualmente, encontram-se liberadas para comercialização e cultivo, cultivares de algodoeiros transgênicos que expressam proteínas inseticidas oriundas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), a qual é capaz de produzir proteínas cristalinas que causam a morte de muitos insetos, principalmente lepidópteros (BERNARDI & OMOTO, 2012; FONTES et al., 2002). O algodoeiro-Bt é cultivado em diversos países, com benefícios diretos como a redução de custos de manejo de pragas, e indiretos, advindos da redução do uso de inseticidas (TORRES et al, 2009). A expressão das proteínas de resistência de plantas, inseridas através da biotecnologia, varia em função das partes do vegetal e do estágio de desenvolvimento da cultura (SANTOS & TORRES, 2010). As tecnologias atualmente liberadas para o cultivo no Brasil controlam pragas da Ordem Lepidoptera, mas existem diferenças entre as tecnologias no que diz respeito às espécies de insetos que são controladas (BERNARDI & OMOTO, 2012).

Entre as pragas do algodoeiro, a lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* e a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens* têm sido recentemente citadas como pragas importantes para a cultura (MIRANDA & FERREIRA, 2005). *S. frugiperda* usualmente se alimenta de folhas, botões florais e maçãs, enquanto *C. includens* das folhas, sendo, estas duas pragas, consideradas relativamente tolerantes à proteína Cry1Ac, de *B. thuringiensis*, expressada nos genomas de plantas de algodão para controle de outras lagartas, como aquelas com a tecnologia Bollgard®.

Este trabalho objetivou avaliar a sobrevivência larval de *S. frugiperda* e *C. includens* alimentadas com folhas de algodoeiro geneticamente modificados resistentes a lepidópteros.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia Aplicada da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, no período de 05 de janeiro (preparo dos vasos) a 23 de junho de 2012 (algodoeiros em fim de ciclo, com 154 dias após a emergência). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, enquanto que os biotestes de mortalidade e desenvolvimento larval foram conduzidos em sala climatizada.

Os algodoeiros foram cultivados em vasos preenchidos com 10 kg de Latossolo Vermelho Distroférico, coletado na profundidade de 0–30 cm, em uma área de pousio recoberta por vegetação predominantemente composta por *Brachiaria decumbens*, cujos resultados das análises química e física de acordo com EMBRAPA (1997), foram os seguintes, em  $\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3}$ : 1,6 (K), 11,9 (Al), 17,9 (Ca), 7,7 (Mg), 89 (H+Al), 27,2 (SB) e 116,2 (T); em  $\text{mg dm}^{-3}$ : 22,8 (M.O.) e 1 (P); pH em  $\text{H}_2\text{O}$ : 5,1; pH em  $\text{CaCl}_2$ : 4,0; em  $\text{g kg}^{-1}$ : (245,30)  $\text{SiO}_2$ , (0,32)  $\text{P}_2\text{O}_5$ , (10,21)  $\text{TiO}_2$ , (255,40)  $\text{Fe}_2\text{O}_5$ , (272,16)  $\text{Al}_2\text{O}_5$ , 760 (argila), 90,9 (silte), 89,2 (areia grossa), 60,2 (areia fina), em  $\text{g cm}^{-3}$ : 1,22 (densidade do solo) e 2,08 (densidade de partículas); em  $\text{cm}^3 \text{ dm}^{-3}$ : 416 (volume total de poros).

A correção da acidez do solo deu-se pelo método da saturação de bases (70%), adicionando-se e homogeneizando-se a quantidade de calcário dolomítico determinada para um volume conhecido do substrato. Da mesma forma, fez-se a adubação de macro e micronutrientes neste substrato, de acordo com a recomendação de NOVAIS et al. (1991) para ensaios em casa de vegetação.

Foi aguardado um período de 21 dias até a semeadura do algodão, permitindo assim uma boa incubação do corretivo e dos fertilizantes no substrato. Aos 12 e aos 23 dias após a semeadura, foram efetuadas adubações de cobertura por meio de soluções nutritivas quantificadas igualmente para cada vaso, com os seguintes nutrientes e respectivas dosagens em  $\text{mg dm}^{-3}$ : N (25), K (25), mais o complexo de micronutrientes. O teor de umidade nos vasos foi mantido ocupando-se com água 60% do volume total de poros, calculado a partir dos valores de densidade do solo e de partículas (EMBRAPA, 1997).

A semeadura dos vasos (tratamentos) foi realizada no dia 18/01/2012, posicionando as sementes de algodoeiro a um centímetro de profundidade, e quatro delas por vaso. Sete dias após a emergência das plântulas, procedeu-se o desbaste deixando-se duas plantas por vaso, de tamanho e aparências visuais uniformes.

Foram conduzidos em laboratório estudos com oferta de folhas de linhagens de algodoeiro resistentes a lepidópteros para lagartas neonatas (primeiro ínstar) das espécies *S.*

*frugiperda* e *C. includens*. Para tal, sempre foi coletada a folha expandida, localizada no quinto nó de cima para baixo das plantas cultivadas em casa de vegetação. As linhagens de algodoeiros resistentes a lepidópteros testados foram, **TwinLink** (evento criado a partir da combinação dos eventos T304-40 e GHB119 por melhoramento genético clássico), **Coker** não modificada, **PHY 440 WS** (evento Widestrike), **FM 993** e **FM 975 WS** (evento Widestrike).

Os estudos foram constituídos de A: oferta de folhas de algodoeiro TwinLink e Coker não modificada à lagartas de *S. frugiperda*; B: oferta de folhas de algodoeiro TwinLink e Coker não modificada à lagartas de *C. includens*; C: oferta de folhas de algodoeiro PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS à lagartas de *S. frugiperda*; D: oferta de folhas de algodoeiro PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS não modificada à lagartas de *C. includens*.

Para cada cultivar de algodoeiro (tratamento) havia oito vasos, com duas plantas cada um, constituindo cada vaso numa repetição. Tomou-se o cuidado, de coletar uma folha por vaso em cada uma das infestações. Nos estudos A e B havia dois tratamentos e oito repetições, e nos Estudos C e D havia três tratamentos e oito repetições. O delineamento experimental dos quatro estudos foi inteiramente casualizado.

Em laboratório, nas placas de Petri que receberam uma folha de algodoeiro em cada uma delas, também se obedeceram ao mesmo critério de tratamentos, repetições e delineamento experimental.

No dia infestação, as folhas foram coletadas, lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 1% e enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram postas para secar em bancadas do laboratório sobre folhas de papel.

Em cada placa de Petri foi disposta uma folha distendida, onde se fez a infestação com 10 lagartas neonatas da espécie por placa, identificando-se a parcela e a data da infestação. As lagartas neonatas de *S. frugiperda*, e *C. includens* foram oriundas de laboratórios de criação massal que forneciam ovos das espécies. A infestação era feita em até 24 horas após a eclosão. Neste período de espera de até 24 horas, as lagartas eram mantidas em dieta artificial. As folhas foram coletadas e infestadas nas seguintes datas e respectivas idades das plantas nos vasos (dias após a emergência = DAE): 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126, 140 e 154 DAE.

As avaliações sempre foram realizadas cinco dias após as infestações, quando foram observados os indivíduos mortos e vivos para o posterior cálculo da mortalidade. As lagartas sobreviventes, após esperados cinco dias de consumo, foram medidas quanto ao tamanho (em mm) para posterior categorização de escala descrita na tabela 1.

Tabela 1. Categorização das escalas para indivíduos (lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens*) sobreviventes após cinco dias das realizações dos testes de sobrevivência associados ao seus comprimentos.

Condição	Tamanho (mm)	Escala
Indivíduo morto	-	0
Sobrevivente L1	<5	1
Sobrevivente L2	5-8	2
Sobrevivente L3	8-12	3
Sobrevivente L4	>12	4

As placas de Petri com as folhas e lagartas foram mantidas nas seguintes condições: temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $75 \% \pm 10 \%$  e fotofase de 14 horas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos estudos A e B pode-se observar nas tabelas 2, 3, 4 e 5 que o evento TwinLink contido em folhas de algodoeiro ofertadas às lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* proporcionou taxa de sobrevivência com variação de valores entre 30% a 50% e no máximo 10% respectivamente no decorrer dos diferentes estágios fenológicos do algodoeiro. No mesmo sentido, observou-se para o evento Coker sobrevivência superior a 85% e 70%.

Tabela 2. Porcentagem de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos TwinLink e Coker não modificada

	28 DAE		42 DAE		56 DAE		70 DAE		84 DAE	
	(%)*	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score
TwinLink	50	3	30	3	45	3	40	3	50	3
Coker	95	4	100	4	95	4	95	4	100	4

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 2 (continuação). Sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos TwinLink e Coker não modificada

	98 DAE		112 DAE		126 DAE		140 DAE		154 DAE	
	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score
TwinLink	0	0	35	3	40	3	50	3	45	3
Coker	0	0	85	4	100	4	100	4	95	4

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 3. Porcentagem de sobrevivência de lagartas de *C. includens* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos TwinLink e Coker não modificada

	28 DAE		42 DAE		56 DAE		70 DAE		84 DAE	
	(%)	Score								
TwinLink	10	2	10	2	0	0	0	0	10	2
Coker não mod.	85	4	70	4	75	4	85	4	95	4

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 3 (continuação). Sobrevivência de lagartas de *C. includens* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos TwinLink e Coker não modificada

	98 DAE		112 DAE		126 DAE		140 DAE		154 DAE	
	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score
TwinLink	0	0	0	0	10	2	0	0	5	2
Coker não mod.	0	0	85	4	95	4	100	4	85	4

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* alimentadas com folhas de algodoeiro contendo o evento TwinLink e sobreviventes cinco dias após a oferta da dieta tiveram desenvolvimento avaliado por meio do score menor que aquelas observadas no evento Coker não modificado. É possível que o evento TwinLink tenha efeito deletério nas referidas espécies de lagartas, concordando com a análise de sobrevivência.

No estudo C e D observou-se que o evento FM 975 WS contido nas folhas de algodoeiro ofertadas às lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* no decorrer dos diferentes estágios fenológicos do algodoeiro promoveu a mortalidade total de indivíduos, exceto aos 42 DAE com 10% de sobrevivência para *S. frugiperda* (Tabelas 5 e 6). Para o evento PHY 440 WS, observou-se uma sobrevivência entre 2 a 5% e 5 a 10% ao longo dos períodos de avaliação para *S. frugiperda* e *C. includens* respectivamente. No evento FM 993 a porcentagem de sobrevivência das lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* sempre foi superior a 80%, exceto aos 56 DAE, com 60% de sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* e aos 42 DAE, com 70% de sobrevivência de lagartas de *C. includens*.

Tabela 4. Sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS

	28 DAE		42 DAE		56 DAE		70 DAE		84 DAE	
	(%)	Score								
PHY440WS	3	2	2	2	2	1	5	2	5	2
FM 993	80	4	85	4	60	4	90	4	100	4
FM975WS	0	0	10	1	0	0	0	0	0	0

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 4 (continuação). Sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS

	98 DAE		112 DAE		126 DAE		140 DAE		154 DAE	
	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score
PHY440WS	0	0	5	2	5	2	5	2	3	2
FM 993	0	0	85	4	100	4	100	4	95	4
FM975WS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 5. Sobrevivência de lagartas de *C. includens* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS

	28 DAE		42 DAE		56 DAE		70 DAE		84 DAE	
	(%)	Score								
PHY440WS	0	0	5	1	0	0	0	0	10	1
FM 993	80	4	70	4	85	4	85	4	95	4
FM975WS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Tabela 5 (continuação). Sobrevivência de lagartas de *C. includens* em cinco épocas de avaliação após oferta de folhas de algodoeiro contendo os eventos PHY 440 WS, FM 993 e FM 975 WS

	98 DAE		112 DAE		126 DAE		140 DAE		154 DAE	
	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score	(%)	Score
PHY440WS	0	0	0	0	5	1	0	0	5	1
FM 993	0	0	85	4	95	4	100	4	90	4
FM975WS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* porcentagem de lagartas vivas (%)

DAE: dias após emergência do algodoeiro nos vasos

Lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* alimentadas com folhas de algodoeiro contendo o evento FM 975 WS não tiveram desenvolvimento, já que morreram; apenas aquelas sobreviventes aos 42 DAE tiveram score 1 para lagartas de *S. frugiperda*. Os scores observados para o evento PHY 440 WS foram, em geral inferiores àqueles observados para o evento FM 993. Juntamente aos valores de sobrevivência nota-se a capacidade do evento FM 975 WS em atuar de forma negativa sobre o desenvolvimento e sobrevivência das lagartas estudadas.

Aos 98 DAE, todas as lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* morreram após oferta de folhas de algodoeiro em todos os estudos. A este fato atribuiu-se uma pulverização com inseticida Acefato 750 PS (1.000 g do produto comercial diluídos em 400 L de água) para controle da população de mosca branca *Bemisia tabaci* efetuada aos 95 DAE. Sob o ponto de vista prático, a obtenção de uma atuação positiva dos eventos genéticos avaliados sobre a mortalidade de lagartas pode demandar medidas complementares.

Os eventos de algodão foram eficientes no controle de *S. frugiperda* e *C. includens*. Os resultados dos efeitos dos materiais na sobrevivência das lagartas deste estudo são semelhantes aos observados na literatura no parâmetro de mortalidade em folhas de mesmos eventos de algodão Bt para as espécies de lagartas em questão (ARMSTRONG et al., 2011 e AKIN et al., 2011). No entanto, existem diferenças na suscetibilidade às proteínas expressas nesses eventos para essas espécies pragas. Em geral, *S. frugiperda* foi mais tolerantes do que *C. includens*, com sobrevivência em bioensaios com discos em folhas de algodão dos diferentes eventos testados.

A sobrevivência relativamente elevada da *S. frugiperda* indica que o potencial de evolução da resistência é maior para essa espécie, pois entre os indivíduos sobreviventes,

possivelmente estão os indivíduos heterozigotos, principais responsáveis pela evolução inicial da resistência (GOULD, 1998).

A diferença na suscetibilidade de *S. frugiperda* e *C. includens* aos eventos de algodão testados pode estar relacionado ao fato do algodoeiro apresentar fases de desenvolvimento de menor expressão de toxinas com atividade inseticida para as pragas (ADAMCZYK et al., 2008)

De acordo com [Armstrong et al., 2011](#) e Akin et al., 2011 é evidente a moderada ação de algumas proteínas no que se refere ao controle de *S. frugiperda* e *C. includens*.. Sendo assim, fica evidente que apenas a utilização de eventos de algodão Bt não atendem a estratégia de Manejo Integrado de Pragas, e tampouco atende as estratégia de Manejo Integrado de Resistência.

## CONCLUSÕES

Não foi identificado um estágio fenológico do algodoeiro de maior ou menor controle de lagartas neonatas de *S. frugiperda* e *C. includens* com as tecnologias testadas;

Algodoeiro TwinLink exerceu controle parcial de lagartas neonatas de *S. frugiperda* no decorrer dos diferentes estágios fenológicos das plantas;

Algodoeiro TwinLink exerceu bom controle de lagartas neonatas de *C. includens* no decorrer dos diferentes estágios fenológicos das plantas;

A tecnologia TwinLink é mais eficiente para o controle de lagartas neonatas de *C. includens* do que para *S. frugiperda*;

FM 975 WS é eficiente no controle de lagartas de *S. frugiperda* e *C. includens* neonatas;

FM 975 WS foi mais eficiente no controle de lagartas neonatas de *S. frugiperda* e *C. includens* do que PHY 440 WS;

Aplicações de inseticidas podem ser necessárias nos eventuais escapes das pragas às tecnologias.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, O.; OMOTO, C. Tecnologia preservada. **Cultivar Grandes Culturas**, v.14, n.155, p.10-13, 2012.

DEGRANDE, P. E. **Manejo de Pragas: realidades e desafios**. Congresso Internacional do Agronegócio do Algodão/ V Seminário Estadual da Cultura do Algodão: negócios e tecnologias para melhorar a vida. **Anais**. Cuiabá, 2000. p.229-244.

EMBRAPA. **Manual de método de análise de solo**. Rio de Janeiro, 2. ed. 1997. 212p.

FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R.; PANIZZII, A. R. The environmental effects of genetically modified crops resistant to insects. **Neotropical Entomology**, v.31, n.4. p. 497-513, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; FILHO, E.B.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES.J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. 3 ed. Piracicaba-SP: Agronômica Ceres. FEALQ, 2002. p.401-403.

HILBECK, A.; ANDOW, D.; FONTES, E. M. G. Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms - Methodologies for Assessing Bt Cotton in Brazil. 1. ed. Wallingford, Reino Unido: CABI, 2006. v. 1. 450 p.

MIRANDA, J. E.; FERREIRA, A. C. B. Contra-ataque. **Caderno Técnico Cultivar**, v.72, p.7-10, 2005.

NOVAIS, R. F; NEVES, J. C. L.; BARROS, N. F. (1991) Método de pesquisa em fertilidade de solos. **Documentos 03**: 189-253, Brasília.

SANTOS, W. J. **Manejo de pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro**. In: FREIRE, E. (Ed.). Algodão no Cerrado do Brasil. Brasília: Abrapa, 2011. p.495-566.

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.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R.; WHITEHOUSE, M. **Transgenic cotton for sustainable pest management: a review**. In: LICHTFOUSE, E.(Org.). Organic farming, pest control and remediation of soil pollutants: sustainable agriculture reviews. Dordrecht: Springer, 2009. p.15-54.