

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**CURSO DE AGRONOMIA**

**GUILHERME DA SILVEIRA DENGÓ**

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHO GENETICAMENTE  
MODIFICADOS EM RELAÇÃO AOS DANOS CAUSADOS POR  
*Spodoptera frugiperda***

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II**

**DOIS VIZINHOS**

**2021**

GUILHERME DA SILVEIRA DENGO

**COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHO GENETICAMENTE  
MODIFICADOS EM RELAÇÃO AOS DANOS CAUSADOS POR *Spodoptera*  
*frugiperda***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Jaquiel Waclawovsky.

DOIS VIZINHOS

2021

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC**

#### **COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHOS GENETICAMENTE MODIFICADOS EM RELAÇÃO AOS DANOS CAUSADOS POR *Spodoptera frugiperda***

Por

GUILHERME DA SILVEIRA DENGO

Monografia apresentada às 15 horas e 30 min. do dia 25 de agosto de 2021 como requisito parcial, para conclusão do Curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo indicados. Após deliberação e conferidas, bem como achadas conforme, as alterações indicadas pela Banca Examinadora, o trabalho de conclusão de curso foi considerado APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Fernando Adami (membro)

Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva (membro)

Prof. Dr. Alessandro Jaquiel Waclawovsky (Orientador)

Prof. Dra. Angélica Signor Mendes (PRATCC)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao apoio de minha mãe Silvana Maria da Silveira, que com seu conhecimento em Biologia pode me ajudar na realização da parte laboratorial e ao meu pai Luis Carlos Dengo, pois sem eles eu não teria chegado à realização desse sonho, enfim toda a minha família. Ao meu orientador Prof. Dr Alessandro Jaquiel Waclawovsky, por sua valiosa orientação, dedicação e exemplo profissional e pessoal. Aos professores Dr<sup>a</sup>. Paulo Fernando Adami e Everton Ricardi Lozano da Silva, que também foram meus coorientadores, transmitindo grande conhecimento e muita dedicação à minha formação. Ao grupo de culturas anuais colegas de trabalho e ao amigo e colega Douglas Camana, pelo auxílio na contagem e apoio sempre prestado. Ao colega de graduação Vanderson, pela paciência e dedicação ao passar seus conhecimentos de estatística e de informática. À Morgan sementes, pelo fornecimento de material para que fosse possível a realização desse trabalho. À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Dois Vizinhos, pelo espaço, e a todos os professores do Curso de Agronomia pela oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal e profissional durante toda minha graduação.

## RESUMO

DENGO, Guilherme da Silveira. **Comportamento de genótipos de milho geneticamente modificados em relação aos danos causados por *Spodoptera frugiperda***. 2021. 29f. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento agrônomico e a supressão em laboratório da lagarta de *Spodoptera frugiperda* de diferentes cultivares e tecnologias de milho Bt (*Bacillus thuringiensis*). Para tanto, foram conduzidos dois experimentos, um a nível de campo, utilizando oito cultivares de milho geneticamente modificados em área experimental do Campus Dois Vizinhos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, sendo 3 repetições de cada material. As variáveis analisadas foram: plantas atacadas e nível de dano, tendo como base a escala Davis, altura, umidade, massa de mil grãos, fileiras por espiga, grãos por fileira, grãos por espiga e produtividade. O segundo experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico da mesma instituição, onde lagartas de *Spodoptera frugiperda* no primeiro instar foram alimentadas com fragmentos circulares de folhas de oito cultivares de milho híbrido geneticamente modificados e um cultivar não Bt, por cinco dias consecutivos. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições e o parâmetro avaliado foi a mortalidade diária das lagartas. Na média, os cultivares com a tecnologia Leptra apresentaram menor proporção de plantas atacadas e nível de dano pela lagarta do cartucho. Em laboratório, todos os cultivares geneticamente modificados ocasionaram maior mortalidade sobre as lagartas em relação ao cultivar não Bt. A média de produtividade dos híbridos avaliados foi de 13.338,09 kg ha<sup>-1</sup>, sendo que apenas o híbrido AG9025 apresentou produtividade significativamente menor em relação aos demais.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, resistência, tecnologia Bt

## ABSTRACT

DENGO, Guilherme da Silveira. **Behavior of genetically modified maize genotypes in relation to damage caused by *Spodoptera frugiperda***. 2021. 29f. Course Conclusion Paper (Undergraduate in Agronomic Engineering) – Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

This study aimed to evaluate the agronomic behavior and laboratory suppression of the *Spodoptera frugiperda* caterpillars from different cultivars and technologies of Bt corn (*Bacillus thuringiensis*). Therefore, two experiments were carried out, one at field level, using eight genetically modified maize cultivars in an experimental area of the Dois Vizinhos Campus of the Federal Technological University of Paraná. The experimental design used was randomized blocks, with 3 replications of each material. The variables analyzed were: attacked plants and damage level, based on the Davis scale, height, moisture, mass of a thousand grains, rows per ear, grains per row, grains per ear and yield. The second experiment was carried out at the Biological Control Laboratory of the same institution, where *Spodoptera frugiperda* caterpillars in the first instar were fed circular leaf fragments from eight genetically modified hybrid maize cultivars and one non-Bt cultivar for five consecutive days. The experimental design was completely randomized with five replications and the parameter evaluated was the daily mortality of caterpillars. On average, cultivars with the Leptra technology had a lower proportion of plants attacked and level of damage by the cartridge caterpillar. In the laboratory, all genetically modified cultivars caused higher mortality on caterpillars compared to the non-Bt cultivar. The average yield of the hybrids evaluated was 13,338.09 kg ha<sup>-1</sup>, and only the hybrid AG9025 showed significantly lower yield compared to the others.

**Key words:** *Zea mays*, resistance, Bt technology

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Localização geográfica da área experimental obtida em Google Earth. UTFPR, Dois Vizinhos, 2021..... 15
- Figura 2 – Escala de avaliação, adaptado de Davis et al. (1992). UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021..... 17
- Figura 3 - Comportamento da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em função da alimentação com folhas de diferentes cultivares Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....22
- Figura 4 - Comportamento da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em função da alimentação com folhas de diferentes tecnologias Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cultivares de milho híbrido e suas respectivas tecnologias Bt utilizadas nos experimentos. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	16
Tabela 2 - Análise de danos causados por Spodoptera frugiperda em experimento a campo com diferentes cultivares e tecnologias Bt. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	20
Tabela 3 - Plantas atacadas por Spodoptera frugiperda em experimento a campo com diferentes cultivares e tecnologias Bt. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	21
Tabela 4 - Estimativas das equações de regressão para o comportamento da mortalidade em função dos cultivares ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	23
Tabela 5 - Estimativas das equações de regressão para o comportamento da mortalidade de lagartas de Spodoptera frugiperda em função da alimentação com folhas de diferentes tecnologias Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	24
Tabela 6 - Parâmetros agrônômicos de diferentes cultivares de milho híbrido em experimentos a campo. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	26
Tabela 7 - Componentes de rendimento de diferentes cultivares de milho híbrido em experimentos a campo. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021. ....	26

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
3.1 TECNOLOGIA BT NO MILHO.....	11
3.2 LAGARTA DO CARTUCHO ( <i>Spodoptera frugiperda</i> ) .....	12
3.3 MEDIDAS DE PRESERVAÇÃO DA TECNOLOGIA Bt.....	13
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
4.1 EXPERIMENTO 1 .....	15
4.2 EXPERIMENTO 2 .....	18
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>20</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>28</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>29</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O milho é uma das gramíneas mais cultivadas no mundo, sendo explorado desde os primórdios da produção agrícola, com evidências de domesticação há mais de 10.000 anos (GALVAO et al., 2015).

Com a evolução do melhoramento genético e da engenharia genética, o homem selecionou características da planta do milho que atendesse as suas necessidades, diminuíssem custos e elevassem os tetos produtivos. Estas características foram sendo complementadas e alteradas ao longo do tempo, e o reflexo que se tem hoje é a grande gama de cultivares de milho (GALVAO et al., 2015).

Uma das evoluções no âmbito da cultura, foi a utilização da biotecnologia agrícola, pela inserção de genes conhecidos como Bt, em linhagens de milho através de sucessivos eventos de transformação genética, visando à proteção aos insetos pragas da ordem Lepidóptera (GALVAO et al., 2015). Os cultivares de milho Bt, baseiam-se na utilização de híbridos portadores de genes advindos de *Bacillus thurigiensis subsp kurstaki*. Diferentes versões dos genes cry e vip têm sido utilizado pela indústria genética, conferindo ao milho, distintos níveis de proteção.

A inserção dos genes de *Bacillus thurigiensis* tem por objetivo a proteção de cultura em relação aos insetos pragas, além da redução substancial de inseticidas químicos, ausência de impactos negativos a outros insetos, mamíferos e seres humanos e degradação ambiental (GALVAO, MIRANDA 2014.).

Os eventos transgênicos estão presentes em 88,4% da área cultivada com milho no Brasil (ISAAA, 2016). No cenário agrícola atual, são comercializados vários híbridos, sendo que o que vai diferenciar cada híbrido é o espectro de ação da proteínas codificadas pelos diversos genes Bt. A tecnologia Bt desde sua liberação no Brasil em 2009, mostrou-se potencialmente competitiva no controle de pragas, porém o manejo incorreto da lavoura e o mau posicionamento dos inseticidas têm provocado o desenvolvimento de resistência. Aplicações sucessivas de moléculas de inseticidas com o mesmo modo de ação e uso inadequado da tecnologia Bt, tem contribuído para a pressão de seleção dos insetos no decorrer dos anos e o aparecimento de pragas resistentes.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento agronômico e a supressão em laboratório da lagarta de *Spodoptera frugiperda* de diferentes cultivares e tecnologias de milho Bt.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os componentes de rendimento dos diferentes cultivares.
- Relacionar a produtividade com a ocorrência natural de ataque de *S. frugiperda* em condições de campo.
- Verificar a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com cultivares de milho Bt de diferentes tecnologias.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 TECNOLOGIA BT NO MILHO.

Plantas geneticamente modificadas são aquelas em que o genoma foi modificado pela introdução de DNA exógeno. Este DNA pode ser de indivíduos da mesma espécie ou completamente distintos, podendo até mesmo ser artificial, sintetizado em laboratório. Os cultivares de milho geneticamente modificados têm sido desenvolvidos, em sua maioria, com a finalidade de disponibilizar ao produtor alternativas para o controle de pragas e tolerância a herbicidas.

Os genótipos Bt baseiam-se na utilização de híbridos de milho portadores de versões de genes oriundas de *Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki*. O gênero *Bacillus*, em sua fase de esporulação, produzem cristais proteicos, que após a ingestão por lagartas e em ambiente alcalino, liberam um núcleo inseticida, o qual é específico em relação ao alvo. Essa propriedade, é uma das características principais do *B. thuringiensis* e se deve a co-evolução com proteínas receptoras de superfície no mesentero de insetos sensíveis, causando danos osmóticos e extravasamento de íons, o que leva a desintegração do mesentero e conseqüente morte do inseto. No ser humano e animais superiores, por possuírem ambiente estomacal ácido, a proteína é degradada, não apresentando efeito sobre os mesmos (PEDROSO, 2009).

Por meio da técnica biobalística, genes destas proteínas inseticidas de *B. thuringiensis* foram introduzidos no milho. A biobalística consiste em um método físico de aceleração de partículas de ouro ou tungstênio, que atravessam a membrana e a parede da célula transportando consigo o DNA exógeno (SANFORD, 1988). No interior da célula, o DNA é dissociado das micropartículas pela ação do líquido celular e se integra ao genoma de forma aleatória. Para conclusão do processo, é necessário que ocorra a regeneração *in vitro* dos tecidos vegetais em meio seletivo, com o auxílio de genes marcadores de seleção que permitem o crescimento preferencial dos tecidos transformados (GALVAO, 2015).

Após a transformação gênica e regeneração *in vitro*, faz-se então a transferência do gene de interesse para as linhagens elite, para somente então obter os cultivares híbridos resistentes aos insetos. Para este processo, são usados métodos de melhoramento clássico, como o retrocruzamento, que são eficazes para

a transferência de um ou poucos genes de interesse (BOREM; MIRANDA, 2013). O retrocruzamento ocorre mediante a utilização de um genitor recorrente (elite) e o genitor doador (linhagem portadora do gene de interesse), sendo que, após vários ciclos de retrocruzamentos entre os descendentes selecionadas para o gene de interesse e o genitor recorrente, obtêm-se 99% do genoma do genitor recorrente (CARNEIRO et al., 2009).

O primeiro evento em milho resistente a inseto foi o Bt 176, da empresa Syngenta nos EUA em 1996. No Brasil, isso só ocorreu 11 anos mais tarde, em 2007, com o evento MON 810 Monsanto (yieldGard), expressando a proteína CryAb. Neste mesmo, também foi aprovado o evento Bt 11 (Agrisure) da Bayer, expressando a mesma proteína. Após estes, foram aprovados mais 14 eventos isolados ou associados com eventos de tolerância a herbicidas.

Embora os materiais transgênicos estejam sendo amplamente utilizados pelos produtores, em contra partida, tem surgido resistência ao uso destes genótipos em várias regiões do globo. Entre os motivos para a rejeição são os potenciais riscos como a criação de novas espécies daninhas, efeito nocivo sobre insetos não alvo, redução da biodiversidade e alimentos alergênicos.

### 3.2 LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*)

Inúmeras pragas atacam a cultura do milho, todavia a *S. frugiperda* popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, lagarta militar, é considerada a praga principal desta cultura (CRUZ et al., 2011). O desenvolvimento desta espécie é do tipo holometabólico, compreendendo as fases de ovo, lagarta, pupa e adultos e é um inseto que ataca outras culturas de importância econômica.

A mariposa coloca seus ovos de coloração verde-clara passando a alaranjado, agrupados, formando uma massa, cerca de 100 por vez em camadas sobrepostas, na parte superior das folhas que pode conter cerca de 300 ovos. O período de eclosão irá depender muito da temperatura sendo de aproximadamente de 3 dias a 25°C. As lagartas inicialmente são claras, passando para pardo escuro a esverdeada até quase preta. Iniciam sua alimentação pela casca dos próprios ovos e depois raspam as folhas mais novas da planta, não perfurando-a, promovendo sintomas de pontuações

esbranquiçadas nas folhas. No final da fase, a larva chega a atingir 50 mm de comprimento (CRUZ et al., 2011).

Quando a lagarta passa para o segundo instar, está migra para o cartucho onde se aloja até o estágio de pupa (CRUZ et al., 2011). É comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho devido ao canibalismo, porém, podem ser encontradas larvas em diferentes instares dentro de um mesmo cartucho. Quando completamente desenvolvida, a lagarta sai do cartucho e penetra no solo, onde constrói uma célula, transformando-se em seguida em pre-pupa com aproximadamente 15 mm de comprimento com duração de um dia. Já o período pupal dura em média 11 dias (GALVAO et al; 2014). Predomina como coloração característica avermelhada ou amarronzada. (GALVAO et al; 2014)

A fase de mariposa tem duração de 10 a 12 dias em média. A mariposa mede cerca de 35 mm de envergadura e coloração das asas anteriores parda-escuras e posteriores branca-acinzentadas, com pontos claros na região central de cada asa. A longevidade do adulto é de cerca de 12 dias. O ciclo completo do inseto é de pouco mais de 30 dias dependendo do clima (GALVAO, 2015).

É uma praga polífaga, ou seja, ataca mais de 60 espécies de plantas, distribuídas em mais de 20 famílias botânicas (CRUZ, 1995). Em milho, ocorre todos os anos, em todas as regiões produtoras e em todas as fases de desenvolvimento da planta (CRUZ et al., 2011). O ataque desta praga é mais comum no período vegetativo da planta, provocando injúrias foliares, todavia, também tem se observado o ataque no pendão e na espiga durante o estágio reprodutivo, podendo reduzir a produção em até 60%, dependendo da cultivar e da época em que ocorre (OTA et al., 2011).

O ataque dessa praga nos últimos anos vem aumentando gradativamente, destacando-se como causas principais para esse incremento a ampla área cultivada com milho e o desequilíbrio ecológico ocasionado por repetitivas aplicações de inseticidas (CRUZ et al., 2011). O controle da *S. frugiperda* é feito através do uso de inseticidas sintéticos, uso de cultivares resistentes e por plantas geneticamente modificadas (CRUZ et al. 2011). O controle químico é dificultado quando o ataque ocorre em estágios mais avançados de desenvolvimento da planta, pois não se consegue entrar com os equipamentos usuais na lavoura (GALLO et al., 2002).

### 3.3 MEDIDAS DE PRESERVAÇÃO DA TECNOLOGIA Bt

No Brasil, a tecnologia de organismos geneticamente modificados por genes Bt se mostrou eficiente no controle de lagarta do cartucho e da lagarta da espiga (*Helicoverpa zea*), duas importantes pragas da cultura do milho. No entanto, a longevidade da tecnologia está em seu uso correto, de modo a evitar a evolução das pragas para a resistência (PEDROSO, 2009).

Algumas estratégias devem ser adotadas ao longo da cadeia produtiva da cultura, de modo a evitar ou reduzir os danos por ocorrência de resistência do inseto à tecnologia. Uma alternativa para evitar a evolução da resistência e um mecanismo de manutenção e preservação da tecnologia Bt foi a adoção da prática de refúgio, que tem por objetivo minimizar a evolução do processo de resistência dos insetos alvo. Sendo assim, tal área deve ser atraente para a oviposição da praga alvo, sendo reservatório de inseto susceptível. O refúgio compreende a área na qual não será exposta a pressão de seleção, onde os insetos podem sobreviver e acasalar-se com indivíduos da área com Bt. de modo a originar descendentes susceptíveis, heterozigotos (PEDROSO, 2009).

No Brasil recomenda-se adoção de no mínimo 10% da área distante no máximo 1500 metros da área Bt (PEDROSO, 2009). No entanto, o uso da área de refúgio tem sido negligenciado pelos produtores e técnicos, culminando no aparecimento de pragas resistentes e obrigando a busca de genótipos piraminados com várias versões dos genes de resistência para garantir o controle dos insetos. Contudo, se essas práticas continuarem, infelizmente o resultado será o mesmo (PEDROSO, 2009).

O manejo integrado, também é uma prática que auxilia na prevenção da resistência, integrando não só o controle biológico, mas também técnicas conservativas. A rotação de culturas permite além da rotação dos princípios ativos de controle químico a rotação das proteínas inseticidas (PEREIRA, E.J.G, et al, 2020).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Para este trabalho, foram conduzidos dois experimentos, sendo o primeiro realizado em nível de campo e o segundo em laboratório, como segue.

### 4.1 EXPERIMENTO 1

O experimento 1 foi conduzido na área da Estação Experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus de Dois vizinhos, coordenadas: 25,69 S e 53,09 W, com altitude média de 530m (Figura 1), na UNEPE Culturas Anuais. O clima da região é classificado como Cfa (subtropical úmido), segundo a classificação de Koeppen (ALVARENGA, 2003). O solo da área é classificado como Latossolo (EMBRAPA, 2006) com textura argilosa e relevo suave.

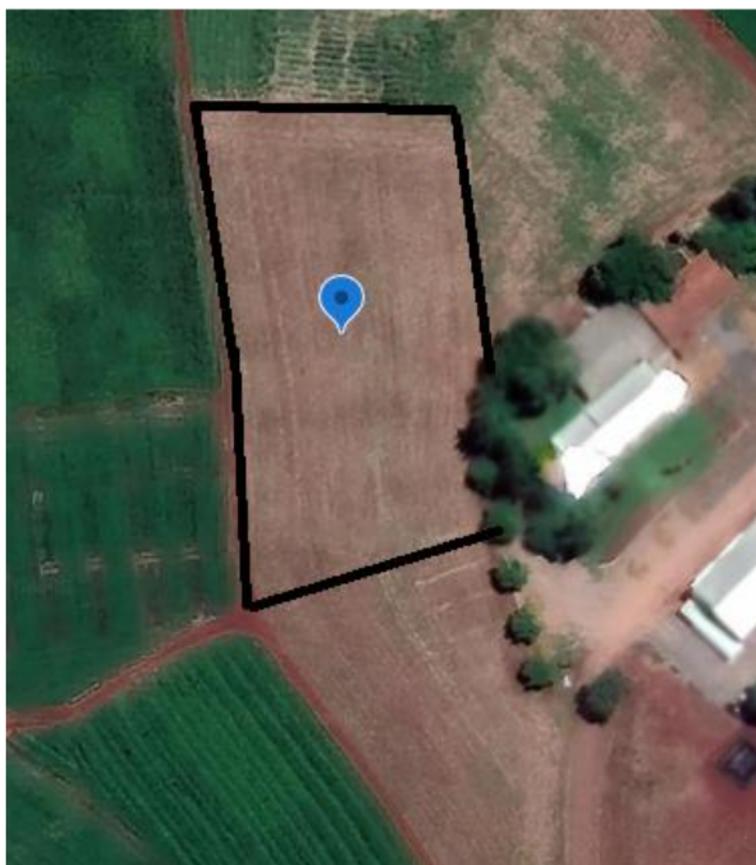


Figura 1 - Localização geográfica da área experimental obtida em Google Earth. UTFPR, Dois Vizinhos, 2021.

Neste experimento os tratamentos foram oito cultivares de milho híbrido com três diferentes tecnologias Bt, sendo, quatro contendo a tecnologia POWERCORE ULTRA, dois VTPRO 3 e dois contendo a tecnologia LEPTRA (Tabela 1). A semeadura foi realizada mecanicamente no dia 17/10/2019, com espaçamento de 0,45m e 4 plantas por metro linear. As parcelas foram constituídas por 10 linhas, com área de 4,50 x 15m.

A adubação foi realizada conforme a recomendação da cultura, com base no manual de adubação e calagem do Paraná. Foi aplicado 40, 80 e 60 Kg ha<sup>-1</sup> de NPK, respectivamente, no momento da semeadura. A colheita foi realizada no dia 12/02/2020, de acordo com o final de cada ciclo dos materiais, no qual eram colhidas duas linhas centrais úteis de cada parcela a cada 5 metros lineares, quando os híbridos apresentavam umidade em torno de 18%.

Tabela 1 - Cultivares de milho híbrido e suas respectivas tecnologias Bt utilizadas nos experimentos. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

<b>Cultivares</b>	<b>Tecnologia</b>	<b>Proteínas</b>
<b>MG300</b>		
<b>MG408</b>	PowerCore Ultra	Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2 e Vip3Aa 20
<b>MG545</b>		
<b>MG593</b>		
<b>P1225</b>	Lelptra	VIP3aA20+Cry1Ab+Cry1F
<b>P30F53</b>		
<b>DKB230</b>	VT Pro3	Cry 1A105 (1Ab, 1Ac, 1F) + Cry2Ab2 + Cry3Bb1
<b>AG9025</b>		

Foram avaliadas as seguintes variáveis:

- Altura de planta: que foi mensurada a partir do nível do solo até a extremidade da última folha (folha bandeira), com o auxílio de uma trena métrica;

- Número de fileiras por espiga, grãos por fileira e grãos por espiga: em cada repetição foram coletadas em 5 metros lineares as espigas para contabilizar o número de fileiras por espigas, os grãos por fileira e com os dados destas duas variáveis se constituiu o número de grãos por espiga.

- Massa de mil grãos: a partir da amostra das espigas coletadas em 5 metros lineares em cada repetição, foi realizada a contagem e posterior pesagem de 1000 grãos de cada parcela, sendo os dados expressos em gramas.

- Produtividade: foi medida em massa em kg ha<sup>-1</sup> dos grãos resultantes da debulha das espigas de cada uma das 3 amostras colhidas de cada parcela, com o auxílio de uma balança eletrônica.

- Dano por *S. frugiperda*: foi realizado aos 35 dias após a semeadura, quando as plantas se encontravam nos estágios de V3, V4 e V5, em função da variabilidade de cada material. A avaliação visual foi realizada utilizando a escala proposta por DAVIS et al. (1992). Através de uma escala visual de notas, dois avaliadores atribuíam notas que variam de 0 (sem danos) a 9 (cartucho totalmente destruído) de acordo com a escala proposta por DAVIS et al. (1992) (Figura 2), observando duas plantas centrais a cada 5 metros lineares nas duas linhas centrais da parcela.

- Plantas atacadas: foi realizada no estágio de pendramento da cultura (VT), onde se contabilizou o número de plantas atacadas em cada repetição. As estimativas visuais foram realizadas pelo método de caminhada na parcela de cada tratamento ao acaso, onde se observava 20 plantas das linhas centrais das parcelas.



Figura 2 – Escala de avaliação, adaptado de Davis et al. (1992). UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

O delineamento experimento foi em blocos ao acaso, com três repetições e os dados foram submetidos a análise por meio do teste de Scott- Knott, com nível de significância de 5%.

## 4.2 EXPERIMENTO 2

Para avaliar a resistência da genética do milho a lagarta-do-cartucho a segunda etapa do trabalho foi a avaliação da mortalidade das lagartas em ambiente controlado. O experimento foi conduzido no laboratório de controle biológico do Campus Dois Vizinhos da UTFPR, sendo o delineamento experimental utilizado o inteiramente casualizado com nove tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos constituíram-se de nove genótipos de milho híbrido, sendo oito geneticamente modificados, conforme tabela 1 e um de milho não geneticamente modificado (não Bt).

Em cada repetição, utilizou-se 12 lagartas recém-eclodidas da espécie *S. frugiperda*, que eram postas sobre os recortes de folha dos híbridos com o auxílio de um pincel de cerdas finas, de modo a diminuir o estresse e evitar danos no inseto. As lagartas eram isoladas em placas de acrílico cada qual em um compartimento circular de modo a evitar o canibalismo, perfazendo 60 lagartas por tratamento.

As folhas utilizadas para alimentar as lagartas foram obtidas de plantas com 16 a 27 dias após a semadura, pois o ataque da *S. frugiperda* no campo inicia-se aproximadamente nessa fase, quando as lagartas “raspam” as folhas de milho (Silveira et al., 1998). Cada lagarta foi alimentada com pedaços de folha padronizados com dois centímetros quadrados. As folhas foram recortadas com o auxílio de um cortador manual constituído por um cilindro com extremidade oca e afiada o qual era pressionado no sentido longitudinal e paralelo as nervuras centrais, onde se concentra cerca de 99% das lagartas em estágio iniciais de alimentação (NG et al., 1985), possibilitando assim cortes circulares que melhor se encaixavam no recipiente.

A cada 24 horas registrava-se o número de lagartas mortas e o alimento não consumido era retirado e substituído, repetindo todo o processo de corte das folhas que eram cada dia novamente coletadas no campo. A mortalidade das lagartas foi registrada diariamente durante 5 dias seguidos. Ao final do 5º dia, com os números da

contagem final da população, os dados foram submetidos a análise de variância e determinação das estimativas de regressão.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos experimentos de campo, a avaliação do ataque de *Spodoptera frugiperda* foram avaliados em dois momentos distintos. Primeiramente, através da contabilização do nível de dano baseado na escala Davis, após 35 dias da semeador, quando as plantas estavam em V3, V4 e V5, dependendo do material. Baseado nos resultados obtidos (Tabela 2), pode se observar que os genótipos responderam diferentemente ao ataque e severidade dos danos avaliados, sendo observado ataque em todos os materiais Bt.

Tabela 2 - Análise de danos causados por *Spodoptera frugiperda* em experimento a campo com diferentes cultivares e tecnologias Bt. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

Cultivares	Escala Davis (1-10)	Tecnologias	Escala Davis (1-10)
MG300	3,58 a	Powercore Ultra	2,41 a
MG408	1,55 b		
MG545	1,66 b		
MG593	1,00 b		
P1225	1,33 b	Leptra	1,30 b
30F53	1,28 b		
DKB230	2,61 a	VT Pro3	2,64 a
AG9025	2,66 a		
<b>Média</b>	1,96		2,12
<b>CV (%)</b>	23,77		27,49

Os piores resultados foram observados nos híbridos DKB230 e AG9025, com tecnologia VT Pro3 e no híbrido MG300, com a tecnologia Powercore Ultra, todos apresentando um controle menos efetivo, os quais receberam as notas mais altas. Estes materiais estão caracterizados com notas acima de 2 da escala Davis, demonstrando a sua maior susceptibilidade na primeira avaliação com as plantas no estágio fenológico vegetativo.

Realizando uma análise baseado apenas nos dados por tecnologia (Tabela 2), pode-se notar que os resultados foram piores para a tecnologia Powercore Ultra e

VTPro3. Os dois híbridos com a tecnologia Leptra, P1225 e 30F53 apresentaram na média, uma intensidade de dano menor. Com esta primeira avaliação, poderia se afirmar que a tecnologia Leptra apresentou-se mais adequada para o controle de *S. frugiperda*.

Mais tarde, com plantas no estágio fenológico VT, foi contabilizado o percentual de plantas atacadas (Tabela 3). Nesta análise, os híbridos com maior percentual de plantas atacadas foram DKB230 e AG9025, ambos com a tecnologia VT Pro3, que na média, também apresentou-se maior percentual de plantas atacadas em relação a média das tecnologias PowercoreUltra e Leptra. Além disso, observou-se um nível de plantas atacadas significativo em alguns híbridos superando 60%, indicando, que caso o objetivo fosse lavoura comercial, haveria necessidade de aplicação de inseticida para o controle da lagarta.

Tabela 3 - Plantas atacadas por *Spodoptera frugiperda* em experimento a campo com diferentes cultivares e tecnologias Bt. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

<b>Cultivares</b>	<b>Plantas atacadas (%)</b>	<b>Tecnologia</b>	<b>Plantas atacadas (%)</b>
MG300	43,08 c		
MG408	65,17 b	Powercore Ultra	51,46 b
MG545	66,56 b		
MG593	18,75 d		
P1225	59,93 b	Leptra	42,22 b
P30F53	24,50 d		
DKB230	88,25 a	VT Pro3	85,06 a
AG9025	81,87 a		
<b>Média</b>	56,01		59,58
<b>CV (%)</b>	11,46		28,26

Não podemos comparar os resultados entre o dano (Tabela 2) e o percentual de plantas atacadas (Tabela 3), já que um representa a intensidade do ataque e o outro a proporção de plantas atacadas, mas os resultados em conjunto indicam que a tecnologia Leptra apresentou os melhores níveis de controle da lagarta do cartucho.

Em relação a mortalidade de lagartas analisada em laboratório, avaliada ao longo de 5 dias com os oito cultivares de milho Bt e um material não Bt, foi verificada significativa mortalidade já nas primeiras 24 horas em todos os genótipos geneticamente modificados em relação ao material não Bt (Figura 3). O híbrido MG408 se destacou nas primeiras 24 horas, causando 38% de mortalidade da lagarta do cartucho. Ao longo dos dias, a mortalidade causada pela alimentação com folhas geneticamente modificadas incrementou de forma significativa em todos os tratamentos Bt até terceiro dia, quando ocorreu uma tendência de estabilização.

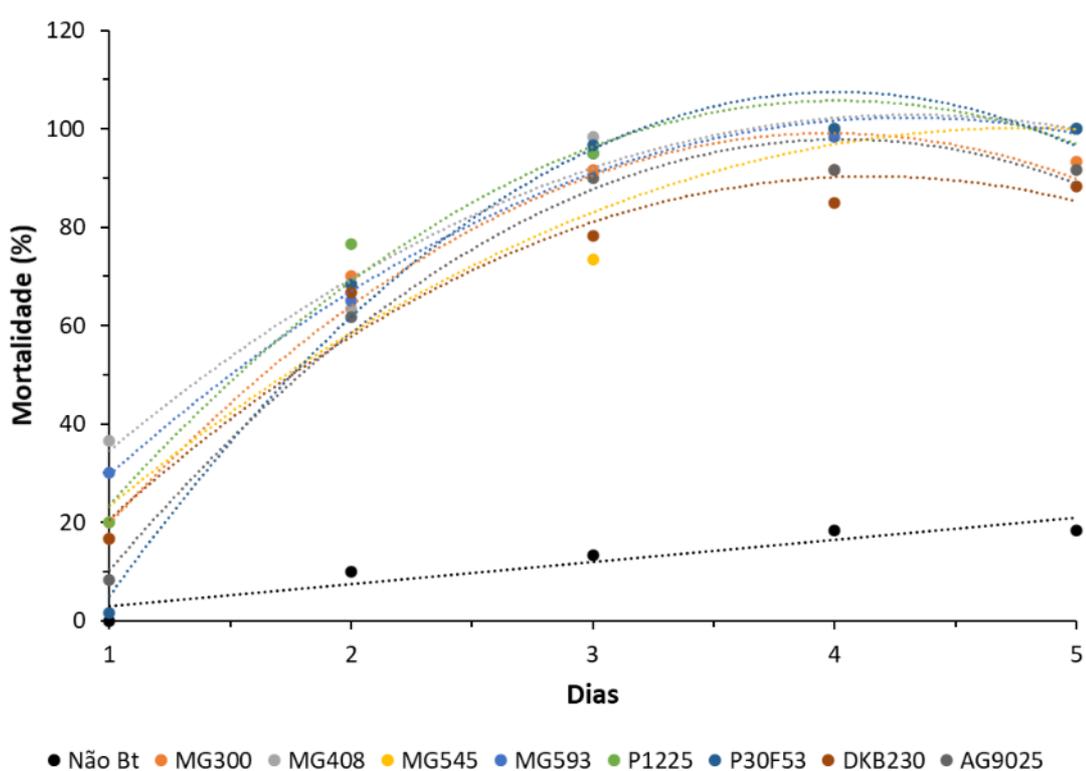


Figura 3 - Comportamento da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em função da alimentação com folhas de diferentes cultivares Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

Em todos os genótipos geneticamente modificados, a mortalidade foi superior a 80% no final do experimento, enquanto que no cultivar não Bt, a mortalidade não atingiu 20%. O comportamento da mortalidade em decorrência da alimentação entre os tratamentos com milho geneticamente modificado foi semelhante, sendo as estimativas das equações de regressão demonstradas na Tabela 4, ou seja, com

comportamento polinomial de segundo grau, enquanto que para o material não Bt, foi linear.

Tabela 4 - Estimativas das equações de regressão para o comportamento da mortalidade em função dos cultivares ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

<b>Cultivares</b>	<b>Equação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
MG300	$y = -8,9286x^2 + 71,071x - 42,333$	0,9735
MG408	$y = -6,1905x^2 + 53,476x - 12,667$	0,9736
MG545	$y = -5,3571x^2 + 51,31x - 22,667$	0,9507
MG593	$y = -6,6667x^2 + 57,333x - 21$	0,9912
P1225	$y = -9,0476x^2 + 72,619x - 40$	0,9751
P30F53	$y = -11,31x^2 + 90,69x - 74,333$	0,9827
DKB230	$y = -7,0238x^2 + 58,31x - 30,667$	0,9602
AG9025	$y = -9,5333x^2 + 76,853x - 57,04$	0,9876
Não Bt	$y = 4,5x - 1,5$	0,8804

Algumas lagartas ainda conseguiram sobreviver até o quinto dia de avaliação, no entanto, apresentarem comprimento inferior às lagartas alimentadas com folhas de milho não Bt (dados não mostrados).

Com a finalidade de correlacionar a mortalidade com a tecnologia Bt, os dados dos híbridos de mesma tecnologia foram agrupados e as estimativas das equações de regressão foram obtidas, sendo demonstradas na Tabela 5. Da mesma forma que na análise anterior, com os genótipos individualizados, a estimativa das equações de regressão também foram polinomiais de segundo grau para as tecnologias, com os dados de mortalidade já maiores nas primeiras 24 horas para os materiais geneticamente modificados em relação ao não Bt e incrementando significativamente até o terceiro dia, quando então ocorreu uma tendência de estabilização (Figura 4). Pode-se notar, que a mortalidade para a tecnologia Leptra foi levemente superior as outras desde o segundo dia de avaliação.

Tabela 5 - Estimativas das equações de regressão para o comportamento da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em função da alimentação com folhas de diferentes tecnologias Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

Tecnologia	Equação	R <sup>2</sup>
Powercore Ultra	$y = -8,9286x^2 + 71,071x - 42,333$	0,9735
Leptra	$y = -9,0476x^2 + 72,619x - 40$	0,9751
VT Pro3	$y = -7,0238x^2 + 58,31x - 30,667$	0,9602
Não Bt	$y = 4,5x - 1,5$	0,8804

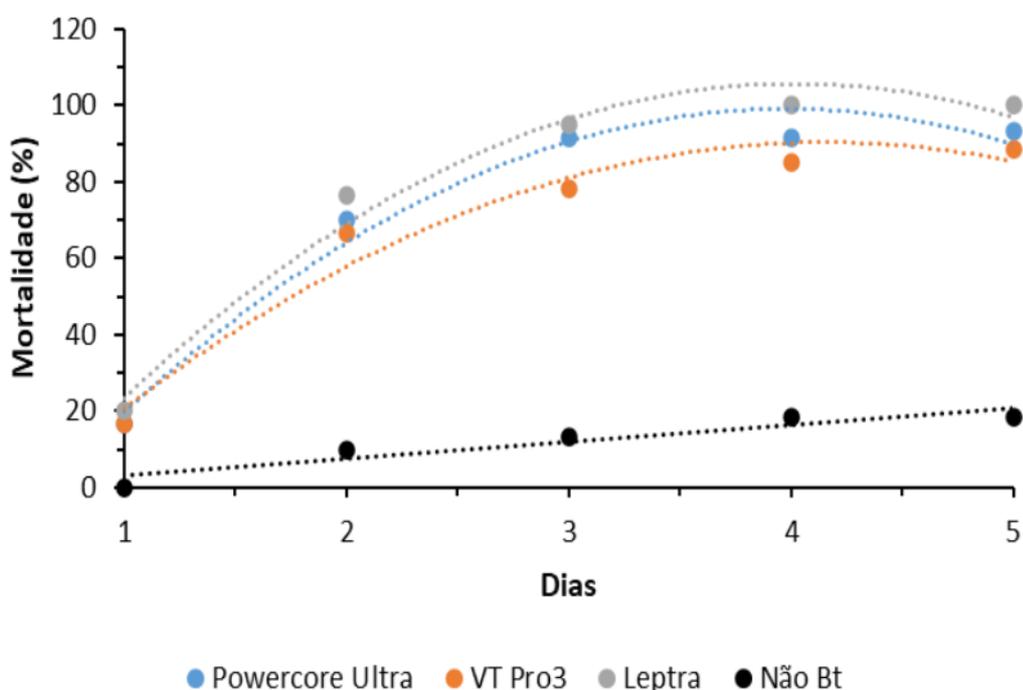


Figura 4 - Comportamento da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em função da alimentação com folhas de diferentes tecnologias Bt e de um cultivar não Bt ao longo de 5 dias. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

No presente trabalho, não foi avaliado o consumo de folhas pelas lagartas, mas LYNCH et al. (1999) observaram menor consumo de folhas de milho Bt por lagartas de *S. frugiperda* em comparação ao consumo de folhas de milho não Bt, o

que indica que, após a prova (primeira alimentação), a larva reduz a alimentação nas folhas de milho Bt. WAQUIL et al. (2002) ressaltam que a atividade da toxina Bt também pode ser afetada pela interação com o genótipo no qual o gene foi incorporado, ou seja, a mesma toxina presente em híbridos diferentes pode apresentar variabilidade frente à infestação com a lagarta-do-cartucho.

A mortalidade de lagartas recém-eclodidas alimentadas de híbridos de milho Bt, foi sempre maior que a mortalidade de lagartas alimentadas em híbridos não Bt. Fato semelhante foi observado por MENDES et al. (2011) ao avaliarem parâmetros biológicos da lagarta-do-cartucho, alimentada com híbridos de milho Bt, que expressam a toxina Cry e seus respectivos isogênicos não Bt. Segundo DUTTON et al. (2005) larvas nos primeiros instares são mais sensíveis às toxinas Bt em razão das alterações na atividade específica de proteases em seu suco intestinal. Os autores também observaram diferença na sobrevivência das lagartas alimentadas com milho com diferentes eventos Bt. Segundo os autores, esse fato é comum devido aos promotores usados nos eventos comerciais serem diferentes, além do fato que a expressão das toxinas Bt em nível celular ser frequentemente desconhecida em variedades comercialmente disponíveis.

Com relação aos parâmetros agrônômicos (Tabela 6), verificamos que o cultivar mais alto foi o AG9025. Em relação a população, foram observadas diferenças significativas, bem como para o teor de umidade no momento da colheita. Este último fato relacionado o ciclo diferente entre os genótipos utilizados.

Não foram observadas diferenças significativas para os componentes de rendimento massa de mil grãos e grãos por fileira, entre os cultivares analisados (Tabela 7). Na média, a massa de 1000 grãos ficou em 356,36g e os grãos por fileiras em 37,51. O híbrido P1225 destacou-se dos demais em relação ao número de fileiras por espiga e, conseqüentemente, grãos por espiga, mas isso não refletiu em maior produtividade.

A produtividade média do experimento foi de 13.338,09 kg ha<sup>-1</sup> (Tabela 7), sendo que apenas o híbrido AG9025 apresentou diferença significativa em relação aos demais, com produtividade inferior aos demais. Estes dados indicam que apesar dos danos causados pelo ataque da lagarta do cartucho, os cultivares apresentaram produtividade elevada. O híbrido AG9025 apresentou menor produtividade pois o

mesmo acamou durante o experimento. O mesmo fato ocorre com o cultivar P1225, o que não afetou sua produtividade.

Tabela 6 - Parâmetros agrônômicos de diferentes cultivares de milho híbrido em experimentos a campo. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

<b>Cultivares</b>	<b>Altura (m)</b>	<b>População (pl ha<sup>-1</sup>)</b>	<b>Umidade (%)</b>
MG300	2,10 b*	57.777,78 b	23,10 b
MG408	2,17 b	60.740,74 b	23,90 b
MG545	2,28 b	75.555,56 a	28,63 a
MG593	2,54 a	71.111,11 a	28,07 a
P1225	2,47 a	53.333,33 b	18,83 c
P30F53	2,32 b	71.111,11 a	26,08 a
DKB230	2,35 b	63.703,70 b	16,83 c
AG9025	2,72 a	57.777,78 b	18,66 c
<b>Média</b>	<b>2,37</b>	<b>63.888,89</b>	<b>23,01</b>
<b>CV (%)</b>	<b>5,49</b>	<b>6,05</b>	<b>5,84</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 7 - Componentes de rendimento de diferentes cultivares de milho híbrido em experimentos a campo. UTFPR, Campus Dois Vizinhos, 2021.

<b>Cultivares</b>	<b>MMG (g)</b>	<b>Fileiras por espiga</b>	<b>Grãos por fileira</b>	<b>Grãos por espiga</b>	<b>Produtividade (kg ha<sup>-1</sup>)</b>
MG300	368,64 <sup>ns</sup>	16,80 b*	36,70 <sup>ns</sup>	615,00 b	14.479,70 a
MG408	384,29	15,20 b	35,20	536,53 b	14.946,83 a
MG545	399,93	15,87 b	36,30	574,67 b	13.520,84 a
MG593	357,74	15,73 b	37,73	592,53 b	15.200,52 a
P1225	306,43	18,67 a	38,47	716,27 a	12.391,17 a
30F53	330,40	15,73 b	38,47	606,27 b	12.183,60 a
DKB230	373,24	15,73 b	38,47	606,40 b	14.682,00 a
AG9025	330,24	15,73 b	38,73	610,80 b	9.300,09 b
<b>Média</b>	<b>356,36</b>	<b>16,18</b>	<b>37,51</b>	<b>607,31</b>	<b>13338,09</b>
<b>CV (%)</b>	<b>13,34</b>	<b>3,21</b>	<b>4,08</b>	<b>5,51</b>	<b>13,34</b>

\* Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si a nível de 5% de probabilidade de erro. ns – diferenças não significativas.

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições em que este experimento foi conduzido, foi possível indicar que tecnologia Leptra apresentou menor nível de dano e plantas atacadas por *S. frugiperda*. No entanto, este fato não refletiu em maior produtividade.

## 7 REFERÊNCIAS

GALVAO, et al, **Milho do plantio a Colheita**. UFV, v1, 357p. 2015.

Rosa, Ana Paula Schneid Afonso da, **Bioecologia e controle da Spodoptera frugiperda em milho**. Pelotas: EMbrapa clima temperado, 2012.

BUENO, A. de F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BUENO, R. C. O. de F. Controle de pragas apenas com o MIP. **A granja**, v1, n. 733, p. 76-79, 2010.

PEDROSO.S.R, Tecnologia e produção: milho safrinha e culturas de inverno 2009. Maracaju: FUNDAÇÃO MS, 2009. 120p.:il.

FIGUEIREDO, et, al. Biotecnologia aplicada à agricultura: textos de apoio e protocolos experimentais- Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas ; Recife, PE : Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), 2010.

NAKANO, et al. **Entomologia agrícola I**, Piracicaba : FEALQ, 2002.

PEREIRA, E.J.G, et al. **Manejo de resistência de insetos á tecnologia BT: conhecer, entender e agir para manter sua vantagem**, Brasília, Agronegócio em foco, 2018.