

**Estratégia de Manejo da Resistência
para Lagarta-do-cartucho do Milho
em Terras Baixas do Rio Grande do
Sul Através do Refúgio no Saco**



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
285**

**Estratégia de Manejo da Resistência
para Lagarta-do-cartucho do Milho
em Terras Baixas do Rio Grande do
Sul Através do Refúgio no Saco**

*Leticia Hellwig
Ana Paula Schneid Afonso da Rosa
Julio José Centeno da Silva
Anderson Dionei Grützmacher
Roberta Manica-Berto
Patricia Marques dos Santos*

***Embrapa Clima Temperado
Pelotas, RS
2018***

Embrapa Clima Temperado 22
BR 392 km 78 - Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações

Presidente
Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente
Enio Egon Sosinski

Secretário-Executivo
Bárbara Chevallier Cosenza

Membros
*Ana Luiza B. Viegas, Fernando Jackson,
Marilaine Schaun Pelufê, Sonia Desimon*

Revisão de texto
Bárbara Cosenza

Normalização bibliográfica
Marilaine Pelufê

Editoração eletrônica
Nathália Fick (estagiária)

Foto da capa
Pedro Lima Bellinazo

1ª edição
Obra digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Clima Temperado

-
- E82 Estratégia de manejo da resistência para lagarta-do-
cartucho do milho em terras baixas do Rio Grande do
Sul através do refúgio no saco / Leticia Hellwig...
[et al.]. – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018.
20 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Clima Temperado, ISSN 1678-2518 ; 285)

1. Milho. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. Praga de planta.
I. Hellwig, Leticia. II. Série.

Sumário

Resumo5

Abstract7

Introdução.....8

Material e Métodos10

Resultados e Discussão13

Conclusões.....18

Referências18

Estratégia de Manejo da Resistência para Lagarta-do-cartucho do Milho em Terras Baixas do Rio Grande do Sul Através do Refúgio no Saco

Leticia Hellwig¹

Ana Paula Schneid Afonso da Rosa²

Julio José Centeno da Silva³

Anderson Dionei Grützmacher⁴

Roberta Manica-Bento⁵

Patricia Marques dos Santos⁶

Resumo – O milho é um dos mais importantes e tradicionais cereais do mundo. O Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial, cultivando mais de 15 milhões de hectares e produzindo aproximadamente 80 milhões de toneladas por ano. No Estado do Rio Grande do Sul, apresenta importância socioeconômica, em termos de renda e emprego, e é responsável por 6,6% da produção nacional. Nos últimos anos, a produção de milho tem sofrido grandes avanços, consequência das novas tecnologias disponíveis para os agricultores, as quais propiciaram aumento de produtividade. No entanto, os problemas fitossanitários têm se agravado a cada safra. Nesse contexto, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) tornou-se a principal praga da cultura nas condições brasileiras, podendo causar perdas de até 100% da produção. Nesse sentido, o objetivo do estudo foi avaliar a tecnologia de refúgio no saco (*Refuge in the Bag* – RIB) com diferentes proporções de misturas de sementes de milho *Bt* e não-*Bt* (BG7060: 100% transgênica, 100% convencional e 90% transgênica

¹ Engenheira agrônoma, doutoranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

² Engenheira agrônoma, D.Sc. em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

³ Engenheiro agrônomo, Ph.D em Agronomia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

⁴ Engenheiro agrônomo, D. Sc. em Entomologia, professor titular da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

⁵ Engenheira agrônoma, D. Sc. em Agronomia, consultora da Triade - Assessoria e Consultoria em Produção Textual, Estatística e Bioinformática Ltda.

⁶ Engenheira agrônoma, mestranda em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Universidade Federal de Pelotas, RS.

+ 10% convencional; AG9045: 100% transgênica, 100% convencional e 95% transgênica + 5% convencional) em condições de campo. Os resultados obtidos evidenciaram que as proteínas influenciam na eficácia da tecnologia RIB, permitindo concluir que ambas as misturas testadas, BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) e AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%), podem ser utilizadas em substituição do refúgio estruturado; apesar de que o híbrido AG9045 sempre apresentou o menor número médio de lagartas e a menor porcentagem de plantas atacadas, quando comparado ao híbrido BG7060. Sendo assim, a intensidade de dano, de maneira geral, diminui com a redução na proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia RIB.

Termos para indexação: nível de controle, lagarta-do-cartucho, *Zea mays*, manejo da resistência.

Resistance management strategy for fall armyworm in corn in lowland of Rio Grande do Sul by refuge in the bag

Abstract – Maize is one of the most important and traditional cereals in the world. Brazil ranks the third position in world production, cultivating more than 15 million hectares and producing approximately 80 million tons a year. In Rio Grande do Sul, maize has a considerable socio-economic importance, in terms of income and employment, and this state is responsible for 6,6% of national production. In the last few years, maize production has advanced considerably, due to new technologies available for farmers, providing an increase in productivity. However, sanitation problems have worsened in each harvest. In this context, the armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is considered the main pest in the Brazilian crop conditions and it may cause losses of up to 100% of the production. In this sense, this study aimed to evaluate refuge (*Refuge in the Bag* – RIB) technologies with different proportions of maize seed mixtures *Bt* and non-*Bt* (BG7060: 100% genetically modified, 100% conventional and 90% genetically modified + 10% conventional; AG9045: 100% genetically modified, 100% conventional and 95% genetically modified + 5% conventional) in field conditions. The results indicate that this protein influences the effectiveness of the RIB technology, and allow to conclude that both tested mixtures, BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) and AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%), can be used to replace structured refuge. However, that the hybrid AG9045 always presented lower average number of worms and the lowest percentage of attacked plants, when compared to the hybrid BG7060. Thus, the intensity of damage broadly decreases with the reduced proportion of non-genetically modified seeds used in the RIB technology.

Index terms: control level, armyworm, *Zea mays*, resistance management.

Introdução

Com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma estratégia de controle de pragas baseada em plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Assim, a safra de grãos de 2008/2009 é considerada um marco na produção de milho no Brasil, uma vez que foi autorizada, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a comercialização de sementes de milho geneticamente modificado que expressam gene(s) que codificam proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Mendes et al., 2008).

Dessa maneira, pela primeira vez, os agricultores brasileiros puderam usufruir dessa tecnologia, que visa auxiliar o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na cultura do milho, cuja principal espécie-praga é a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), mostrando-se uma alternativa viável para locais onde a pressão de lagartas é alta (Araújo et al., 2011).

A adoção de plantas transgênicas tem sido crescente no Brasil. Dessa forma, o milho transgênico no Brasil completou a safra 2016/2017 com 88,4% de taxa de adoção. Desse total, 63,9% foram cultivados com eventos RI/TH (resistente a insetos/tolerante a herbicida), 20,7% com milho resistente a insetos e 3,8% com a tecnologia tolerante a herbicida (Céleres, 2017).

Esse rápido crescimento na área semeada com milho transgênico resistente a insetos faz com que pesquisas e trabalhos nessa área se tornem cada vez mais importantes e essenciais para o contínuo avanço de produtividade da cultura, visto que, com o aumento das áreas cultivadas e o uso indiscriminado de inseticidas químicos ao longo dos anos, a resistência de insetos tem sido identificada como uma ameaça ao desenvolvimento e manutenção da tecnologia e, conseqüentemente, à produção e manutenção de práticas preconizadas pelo MIP (Lemesle et al., 2010).

Nesse contexto, a melhor maneira de preservar os benefícios das plantas transgênicas é a implementação de áreas de refúgio (Martinelli; Omoto, 2005). Essa tecnologia prevê, além da semeadura de área com híbrido Bt, a semeadura de outra área com plantas da mesma espécie, porém não transgênicas, de igual porte e ciclo. O principal objetivo do refúgio é sincronizar os cruzamentos de possíveis adultos, sobreviventes à proteína inseticida, com insetos ainda suscetíveis provenientes da área de refúgio, num esforço de

preservar, na descendência dos cruzamentos, a suscetibilidade à proteína transgênica, com consequente manutenção dos benefícios da tecnologia *Bt* (Waquil et al., 2008).

Cabe ressaltar que o percentual da lavoura que deve ser plantado como área de refúgio depende do evento transgênico utilizado, e que devem ser obedecidas as regras da empresa registrante de cada evento (Tabela 1) (Leite et al., 2011)

Tabela 1. Proteínas Bt disponíveis no mercado e área de refugio recomendada.

Proteína	Área de refúgio
Cry1Ab	10%
Cry1F	
Vip3A	
Cry1A.105 / Cry2Ab2	5%
Cry1Ab / VIP3Aa20	
Cry1.A.105 / Cry2Ab2 / Cry1F	
Cry1Ab / Cry1F	

Mesmo com a contínua conscientização feita por empresas, universidades e instituições de pesquisa, há evidências de que vem diminuindo ao longo dos anos a quantidade de agricultores que, de fato, cumprem as normas de plantio de refúgio. Uma das justificativas para isso seria a de que o plantio dessas áreas onera os custos de produção, bem como o planejamento do plantio como um todo, além da baixa disponibilidade de sementes no mercado. Entretanto, a maioria estaria disposta a utilizar novas tecnologias de refúgio que facilitassem o planejamento e o plantio das áreas (Weise, 2009).

Na tentativa de solucionar e facilitar o cumprimento das normas técnicas de implantação de refúgios, as principais empresas multinacionais produtoras de sementes de milho têm proposto uma nova tecnologia, denominada de Refúgio no Saco (*Refuge In the Bag* - RIB). Essa tecnologia consiste em misturas de porcentagens de sementes não transgênicas diretamente nos sacos com as sementes transgênicas. Comparado ao uso do refúgio estruturado, o

RIB é uma alternativa interessante e deve ser considerada para substituir o método tradicional (Silveira, 2010).

Entre as vantagens dessa nova tecnologia: manejo simplificado do refúgio; uso de apenas um saco de sementes; menos trabalho na organização da semeadura; certeza do cumprimento das normas de refúgio; redução na pressão de seleção de indivíduos resistentes a inseticida químico, e melhor distribuição das plantas não *Bt* ao longo da área cultivada, o que aumenta a probabilidade de os indivíduos suscetíveis cruzarem com os resistentes.

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar a mistura de sementes de milho convencional ao milho transgênico cultivadas em terras baixas para controle de *S. frugiperda*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido a campo, em sistema de preparo de solo convencional, na Estação Experimental de Terras Baixas (ETB) da Embrapa Clima Temperado (CPACT), no município de Capão do Leão, RS (31°49,07'07.09"S 52°28'02.98"O e altitude de 15 m), no ano agrícola de 2013/2014. O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, em faixas, com cinco repetições. Os tratamentos testados constaram de dois híbridos expressando as proteínas *Cry1F* e *Cry1A.105/Cry2Ab2*, seus respectivos isogênicos não-*Bt* e mistura dos mesmos híbridos em diferentes proporções, sendo que a proporção de sementes é menor para o híbrido AG 9045 devido à presença de duas proteínas (Tabela 2).

Tabela 2. Tratamento e proporção de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, usados para avaliação da tecnologia Refúgio no Saco (RIB). Capão do Leão, RS, 2013/2014.

Híbrido	Proteína <i>Bt</i>	Proporção (%)
BG 7060H	<i>Cry1F</i>	100
BG 7060H + BG7060	<i>Cry1F</i> + Convencional	90 + 100
BG 7060	Convencional	100
AG 9045 PRO2	<i>Cry1A.105 / Cry2Ab2</i>	100
AG 9045 PRO2 + AG 9045	<i>Cry1A.105 / Cry2Ab2</i> + Convencional	950 + 5
AG 9045	Convencional	100

O solo da área é classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico solódico, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (Embrapa, 2006). A adubação foi realizada de acordo com a análise de solo, sendo utilizados 400 kg ha⁻¹ da formulação 10-20-20 na semeadura e 180 kg ha⁻¹ de nitrogênio 30 dias após o plantio. Os demais manejos e tratos culturais foram realizados seguindo-se as recomendações técnicas da cultura (Reunião, 2013).

A semeadura foi realizada mecanicamente com espaçamento entre linhas de 50 cm com população aproximada de 65 mil plantas por hectare. A unidade experimental consistiu de faixas com 50 m de comprimento e 4 m de largura, totalizando oito linhas de plantas. Já a unidade de observação consistiu em cinco pontos com 4 m² dentro de cada faixa. Durante a condução do experimento, sempre que atingido o nível de dano (10% de plantas atacadas por *S. frugiperda*), foi realizado controle das lagartas com inseticidas registrados para cultura do milho (Brasil, 2014).

Quando as plantas encontravam-se com oito folhas desenvolvidas, foi realizado nos tratamentos com mistura de sementes o Teste Tiras QuickStix®, desenvolvido para detectar proteínas *Bt*, a fim de identificar a posição das plantas *Bt* e convencionais dentro das áreas demarcadas, e verificar o comportamento dos danos ocasionados pela lagarta.

O teste consistiu na preparação das amostras, em que foram coletadas duas seções circulares de tecido foliar do tamanho da tampa do tubo (Figura 1A). Com auxílio de um pistilo, macerou-se o tecido durante 30 segundos (Figura 1B). Adicionou-se 10 gotas do tampão de extração (Figura 1C), repetindo-se o processo de maceração para homogeneizar o tecido foliar com o tampão de extração (Figura 1D). Colocou-se a tira no tubo de coleta e, após 5 minutos, iniciou-se a interpretação do resultado (Figura 1E). A tira consiste em uma linha controle e uma linha teste; quando a segunda linha era detectada, considerava-se uma planta *Bt* (Figura 1F).

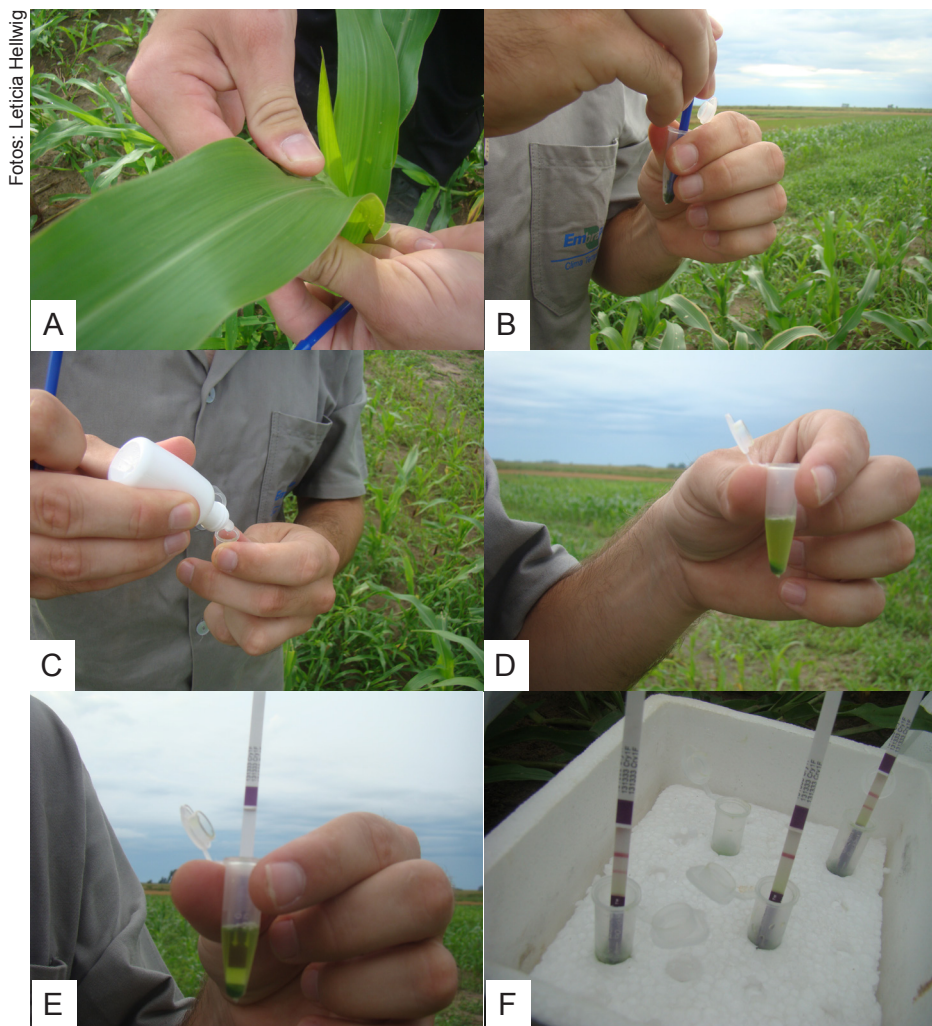


Figura 1. Procedimentos para diagnosticar a presença ou ausência das proteínas *Bt* Cry1F e Cry2A em folhas de milho. Capão do Leão, RS, 2013/2014..

Semanalmente, foram realizadas avaliações, mediante a visualização dentro das áreas demarcadas, do percentual de plantas atacadas e da população de lagartas de *S. frugiperda*.

Aos 156 dias após a semeadura, quando os grãos atingiram a maturação fisiológica, foram colhidas manualmente as espigas de cada ponto, sendo em seguida acondicionadas em sacos devidamente identificados.

A produtividade foi avaliada colhendo-se manualmente em cinco pontos de 7 m² de plantas dentro de cada faixa. Após a colheita, foi realizada a trilha, limpeza e secagem dos grãos para 13% de umidade.

Para a análise estatística, os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; quanto à homocedasticidade, pelo teste de Hartley; quanto à independência dos resíduos, por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância por meio do teste F ($p \leq 0,05$). Para a variável produtividade, os níveis do fator de tratamento foram avaliados pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$) (SAS Institute, 2002).

Resultados e Discussão

Em todos os tratamentos foi visualizada a presença de lagartas de *S. frugiperda*, tanto nas plantas transgênicas como nas não transgênicas. No entanto, lagartas grandes (> 1,5 cm) não foram observadas nas plantas transgênicas, fator decorrente da mortalidade ou do atraso no desenvolvimento, em razão da ingestão das toxinas *Bt* (Bokonon-Ganta et al., 2003). Resultados semelhantes foram observados por Waquil et al. (2014), que também não encontraram lagartas grandes em plantas *Bt*. Outro aspecto importante a ser considerado é que a avaliação da intensidade de danos nos isogênicos *Bt* e não-*Bt* indicou danos mais severos no isogênico não *Bt*, como esperado.

Na primeira avaliação foi observado, de um modo geral, que os dois tratamentos com híbridos convencionais, BG7060 e AG9045, foram os que apresentaram o maior número médio de lagartas presentes (21,5 e 17, respectivamente) e, conseqüentemente a maior porcentagem de plantas atacadas, 90% e 87%, respectivamente (Figura 2A e B). A chance de sobrevivência e multiplicação da lagarta-do-cartucho em milho convencional é muito alta, uma vez que ela não ingere a toxina ao se alimentar das plantas; portanto, a praga pode completar várias gerações durante o ciclo da cultura (Zancanaro, 2012).

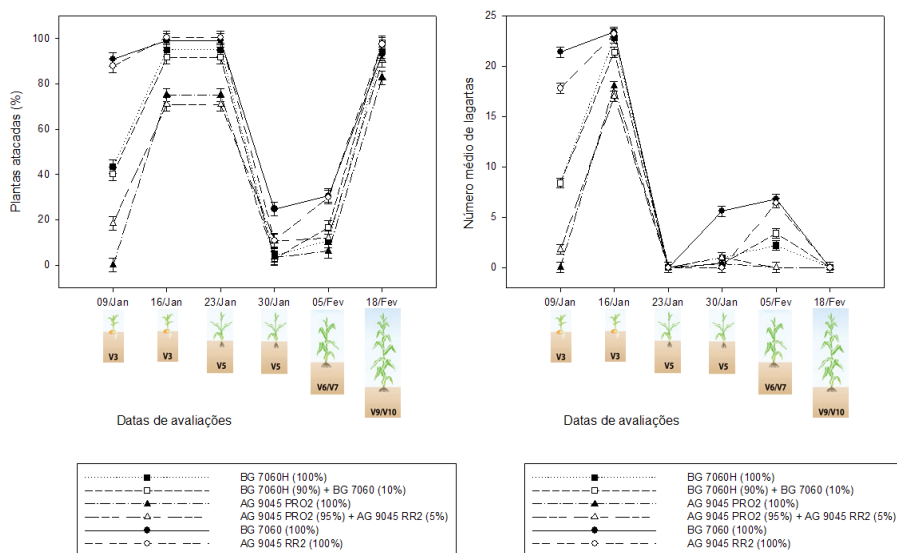


Figura 2. Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (A) e percentual de plantas atacadas (B) em função de diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045. Capão do Leão, RS, 2013/2014.

Já para o tratamento 100% transgênico, BG7060H e sua mistura [BG7060H (90%) + BG7060 (10%)], os índices foram menores, com um número médio de 8,4 lagartas por área demarcada para ambos os tratamentos, e em torno de 40% de plantas atacadas, ataque esse muito menor quando comparado aos tratamentos convencionais. Logo, os dois tratamentos do híbrido AG9045, 100% transgênico e a mistura de sementes [AG9045PRO2 (5%) + AG9045 (5%)] foram os que apresentaram os menores índices, comparados a todos os outros tratamentos: em torno de 1,7 lagartas por área demarcada, e, conseqüentemente, 13,7% de plantas atacadas para o tratamento de mistura de sementes. Para o tratamento 100% transgênico, esses valores foram nulos, ou seja, mesmo 18 dias após o plantio (DAP) do milho, as plantas não apresentavam nenhum sintoma de ataque (Figura 2A e B).

Conforme esperado, os danos nesses tratamentos são muito menores, devido à presença de proteínas *Bt*, com ação inseticida nas plantas. Ressalta-se que, quando se utiliza mistura de sementes, somente sobreviverão as lagartas que acertarem ao acaso as plantas não transgênicas, uma vez que

não há evidências de que elas consigam distinguir as folhas de milho *Bt* e não *Bt*, tendo como base os compostos voláteis das plantas; porém, apresentam não-preferência para alimentação em milho *Bt*, quando submetidas ao contato físico com o hospedeiro (Costa et al., 2009; Mendes et al., 2011).

Após a primeira avaliação, o número médio de lagartas continuou a aumentar em todos os tratamentos. Assim, na segunda avaliação, 25 dias após o plantio (DAP), houve um pico de lagartas presentes nas plantas, chegando a quase 100% de plantas atacadas para quase todos os tratamentos, exceto para o AG9045 PRO2 e a sua mistura com seu respectivo isogênico não-*Bt*, que se mantiveram com valores menores, em torno de 70% de ataque, no entanto, muito acima do nível de dano (10% de plantas atacadas). Esse comportamento se deve ao fato de o híbrido AG9045 PRO2 apresentar duas proteínas no mesmo material e, com isso, pode ocorrer o que muitas vezes designada de “morte redundante”. Isso porque os insetos adaptados a uma proteína morrem devido à segunda proteína, e um inseto totalmente suscetível “morre duas vezes”. Dessa forma, a evolução da resistência pode ser retardada, quando não há resistência cruzada entre as proteínas expressas na planta transgênica (Gould, 1998; Zhao et al., 2003, 2005).

Foram necessárias três intervenções com inseticida, a primeira 27 DAP [flubendiamida (100 mL p.c. ha⁻¹)], reduzindo o número médio de lagartas para zero em todos os tratamentos. No entanto, nos dois tratamentos convencionais o número médio de lagartas novamente aumentou, sendo necessária mais uma aplicação de inseticida, 14 dias após a primeira aplicação [triflumurom (60mL p.c. ha⁻¹)], em ambos os tratamentos. Uma semana após essa aplicação (55 DAP), o número médio de lagartas continuou a aumentar em todos os tratamentos, sendo necessária uma terceira intervenção com inseticida em todos os tratamentos [espinosade (50mL p.c. ha⁻¹)]. Assim, nos tratamentos com o milho não-*Bt*, foram realizadas três pulverizações visando o controle da lagarta-do-cartucho, e nas áreas com plantas *Bt* foram realizadas duas aplicações.

Apesar do comportamento de ambos os híbridos ter sido semelhante ao longo das avaliações, o híbrido BG7060, independentemente de possuir proteína *Bt*, foi o que apresentou sempre o maior número médio de lagartas e a maior porcentagem de plantas atacadas, quando comparado ao híbrido AG9045 (Figura 2A e B). Isso pode ser devido ao fato de a lagarta já apre-

sentar resistência à proteína presente no híbrido (*Cry1F*). Além disso, o tratamento da mistura tem uma porcentagem maior de plantas convencionais (10%).

Embora o milho BG7060H forneça controle próximo a 100%, o mesmo não atende plenamente aos requisitos de evento de alta dose para *S. frugiperda*, devido aos problemas de resistência já relatados para essa espécie (Matten et al., 2008). Também, a constatação da evolução da resistência de *S. frugiperda* à proteína *Cry1F*, após quatro anos de liberação do milho *Bt* em Porto Rico (Storer et al., 2010) é preocupante, pois, no Brasil, recentemente, esse evento foi liberado comercialmente para cultivo. Diante disso, é necessário que as estratégias de manejo de resistência estejam bem estabelecidas e sejam empregadas em âmbito nacional, dentro de um programa pró-ativo de manejo de resistência para, assim, salvaguardar a vida útil dessas tecnologias para o MIP (Bernardi et al., 2011).

Em geral, a produtividade do híbrido AG9045 foi maior em comparação com o híbrido BG7060. Os dois tratamentos que apresentaram a menor produção foram a mistura [AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%)] e o 100% convencional BG7060 (Figura 3). Cabe ressaltar que, mesmo com uma aplicação a mais de inseticida nos tratamentos convencionais, a produtividade ainda foi menor do que nos tratamentos com a mistura de sementes.

Para o híbrido com uma proteína, BG7060, a maior média obtida foi a do tratamento de mistura de sementes *Bt* e convencionais, produzindo cerca de 7,47% e 18,67% a mais, quando comparado com BG7060H e BG7060, respectivamente. Para o híbrido de segunda geração, a maior média obtida foi a do tratamento 100% transgênico (AG9045 PRO2), produzindo cerca de 8,42% a mais que o tratamento convencional, e 36,79% a mais quando comparado com a mistura de sementes *Bt* e convencional.

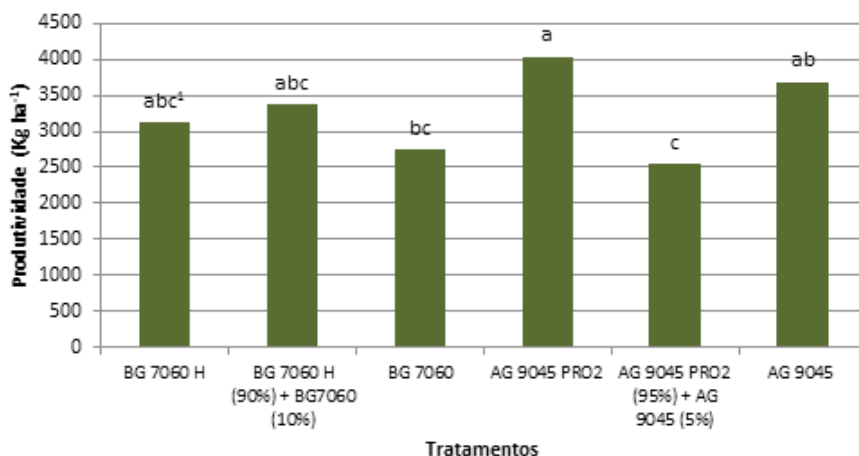


Figura 4. Produtividade média (kg ha⁻¹) das cultivares de milho BG7060 H e AG9045 PRO2, nos tratamentos com as porcentagens de mistura de sementes não transgênicas com transgênicas (mistura de 10% e 5% para BG7060 e AG9045, respectivamente), totalmente transgênico e totalmente convencional em relação aos danos causados por *Spodoptera frugiperda*. Capão do Leão, RS, 2013/2014. Média de cinco determinações. Médias seguidas por mesma letra não diferiram entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

As plantas *Bt* “piramidadas”, como o AG9045 PRO2, retardam a evolução da resistência mais eficientemente que plantas que expressam uma única proteína inseticida (BG7060 H), principalmente devido à baixa frequência inicial dos indivíduos resistentes às múltiplas toxinas (Ferré; Van Rie, 2002). O uso de plantas “piramidadas” apresenta, ainda, como vantagem controlar mais eficientemente todo o complexo de lagartas em culturas que apresentem pragas múltiplas, pois espécies que são pouco suscetíveis a uma das proteínas podem ser mais suscetíveis à outra proteína expressa na planta *Bt*. Além disso, permitem a redução no tamanho das áreas de refúgio, visto que estudos de modelagem têm demonstrado que 5% a 10% de área de refúgio com plantas expressando duas proteínas *Bt* podem proporcionar a diluição de resistência equivalente a 30% a 40% de área de refúgio, quando duas plantas transgênicas com uma única proteína são implantadas sequencialmente (Bates et al., 2005; Zancanaro, 2012).

Conclusões

O híbrido AG9045 (transgênico) apresenta menor número médio de lagartas e menor porcentagem de plantas atacadas, quando comparado ao híbrido BG7060 (transgênico).

A mistura de sementes de híbridos transgênicos com híbridos convencionais diminui a necessidade de aplicações de inseticidas, quando comparada aos híbridos puramente convencionais.

A intensidade de danos ocasionados por *S. frugiperda* em plantas de milho, em geral, diminui conforme a proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia *Refuge in the Bag* (RIB), refletindo em diferenças na produtividade, para as condições do experimento

Referências

- ARAÚJO, L. F.; DA SILVA, A. G.; CRUZ, I.; CARMO, E. L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M. M. P.; RATTES, J. F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico Bt. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 205-214, 2011.
- BATES, S. L.; ZHAO, J. Z.; ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. **Nature Biotechnology**, New York, v. 23, n. 1, p. 57-62, 2005.
- BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. D. DE. (Org.). **Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Visconde do Rio Branco: Suprema, v. 1, p. 181-207, 2011.
- BOKONON-GANTA, A. H.; BERNAL, J. S.; PIETRANTONIO P. V.; SÉTAMOU, M. Survivorship and development of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), on conventional and transgenic maize cultivars expressing *Bacillus thuringiensis* Cry9C and Cry1A(b) endotoxins. **International Journal of Pest Management**, Washington, v. 49, p. 169-175, 2003.
- BRASIL. MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Agrofit**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 ago. 2014.
- CÉLERES. **3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2016/17**. Disponível em: <<http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-de-adocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- COSTA, M. C. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, M. S.; BOREGAS, K. G.; FERMINO, T. C.; LOPES, M. E.; WAQUIL, J. M. Avaliação da não - preferência de *Spodoptera frugiperda* (J.

E. Smith, 1797) entre híbridos de milho *Bt* e não *Bt*. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 4., 2009, São Lourenço. **Anais**. 2009.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPq). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 286 p.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 501-533, 2002.

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

LEITE, N. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; PEREIRA, E. J. G. **Milho Bt no Brasil: a situação e a evolução da resistência de insetos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 47 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 133).

LEMESLE, V.; MAILLERET, L.; VAISSAYRE, M. Role of spatial and temporal refuges in the evolution of pest resistance to toxic crops. **Acta Biotheoretica**, New York, n. 58, p. 89-102, 2010.

MARTINELLI, S.; OMOTO, C. Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas: relevância da implantação de estratégias proativas de manejo da resistência. **Biotechnology, Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 34, p. 67-77, 2005.

MATTEN, S. R.; HEAD, G. P.; QUEMADA, H. D. How governmental regulation can help or hinder the integration of *Bt* crops within IPM programs. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (Ed.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Amsterdam: Springer, 2008. p. 27-39.

MENDES, S. M.; MARUCCI, R. C.; MOREIRA, S. G.; WAQUIL, J. M. **Milho Bt: avaliação preliminar da resistência de híbridos comerciais à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 157).

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 Cry1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011.

REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 58.; REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO SORGO, 41., 2013, Pelotas. Indicações Técnica para o cultivo de milho e sorgo no Rio Grande do Sul: Safras 2013/2014, 2014/2015. Pelotas: Embrapa, 2013. 124 p. Organizado por Beatriz Marti Emygdio, Ana Paula Schneid Afonso da Rosa e Mauro César Celaro Teixeira.

SAS Institute. **SAS system for Windows**, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

SILVEIRA, L. **Monsanto vai usar semente comum na lavoura transgênica**. Brasil Econômico. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.brasileconomico.com.br/noticias/monsanto-vai-usar-semente-comum-na-lavoura-transgenica_76248.html>. Acesso em: 23 out. 2010.

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J. W.; HUCKABA, R. M. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 4, p. 1031-1038, 2010.

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

Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 10 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 160).

WAQUIL, J. M.; MENDES, S. M.; VINA, P. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S. Mistura de sementes de milho *Bt* e não-*Bt* como alternativa ao refúgio estruturado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 25., 2014, Goiânia.

Entomologia integrada à sociedade para o desenvolvimento sustentável: anais. Goiânia: Sociedade Entomológica do Brasil, 2014.

WEISE, E. **Farmers growing genetically engineered corn break rules.** USA Today. 2009. Disponível em: <http://www.usatoday.com/tech/science/2009-11-05-genetically-engineered-corn_N.htm>. Acesso em: 10 out. 2010.

ZANCANARO, P. O. **Comparação de métodos e proporções de áreas de refúgio em dois híbridos de milho transgênico.** 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2012.

ZHAO, J. Z.; CAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. J.; ROUSH, R. T.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. **Nature Biotechnology**, v. 21, p. 1493-1497, 2003.

ZHAO, J. Z.; CAO, J.; COLLINS, H. L.; BATES, S. L.; ROUSH, R. T.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two *Bacillus thuringiensis* genes speeds insect adaptation to pyramided plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America**, v. 102, p. 8426-8430, 2005.



Clima Temperado