

Brasília, DF
Dezembro, 2008

Autor

L. A. M. Cordeiro
Entomologista, Dr.
luizadriano@cenargen.embrapa.
br

Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia, Brasília-DF,
Brasil,

N. P. Benito
Entomologista, Dr.
norton@cenargen.embrapa.br
, Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia

V. L. P. Polez
Biólogo, Dr,
vpolez@cenargen.embrapa.br
, Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia

Aspectos Descritivos Gerais da Praga Quarentenária *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae) na Cultura do Milho



Foto: University of Minnesota Extension Service

Introdução

No período de outubro de 1989 a dezembro de 1996 foram inspecionados, na Estação de Quarentena Vegetal (EQV) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram detectados insetos pertencentes a nove ordens, e pelo menos 33 famílias e 21 gêneros. A maioria dos insetos detectados no germoplasma vegetal podem ser direta ou indiretamente nocivos ao material vegetal e até mesmo, se introduzidos no País, vir a causar sérios problemas em culturas de importância econômica (OLIVEIRA et al., 1999).

A grande maioria dos organismos introduzidos em um local novo tende a ser mais destrutivos do que no *habitat* original por falta de inimigos naturais e condições climáticas favoráveis. Se este organismo torna-se uma praga agrícola ainda conta com a disponibilidade de alimento, ou seja, grandes quantidades da planta hospedeira. Existem vários exemplos na história da agricultura, tanto brasileira, como mundial, onde a introdução de uma praga juntamente com o material vegetal, seja, sementes, mudas ou outras estruturas vegetativas, destruiu colheitas ou causou danos extensivos à plantações e florestas. No Brasil, tem-se como exemplo a introdução do bicho do algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae), detectado pela primeira vez em fevereiro de 1983, nas proximidades de Campinas, SP. Em março, a área infestada alcançava 3.600 ha, e no final da safra 1984/85, aproximadamente 100.000 ha. Outro caso recente é o da mosca-branca *Bemisia argentifolii* que se disseminou para várias regiões do mundo através do comércio internacional de plantas ornamentais. No Brasil, esta espécie foi

introduzida por volta de 1991, juntamente com plantas ornamentais no Estado de São Paulo. A partir de então se disseminou rapidamente, encontrando-se atualmente em 15 estados brasileiros aonde vem causando perdas econômicas em diversas culturas (OLIVEIRA et al., 1999).

Levantamentos realizados no Brasil indicam que as pragas podem ser responsáveis por perdas da ordem de R\$ 2,2 bilhões para as principais culturas. As pragas são favorecidas no Brasil por ser uma região tropical, apesar de os percentuais de perdas serem variáveis de região para região, principalmente, levando-se em conta as diferenças socioeconômicas existentes no País (GALLO et al., 2002).

Várias metodologias são utilizadas para se proceder a restrição da introdução e dispersão de pragas nos países por meio do comércio internacional de produtos vegetais. A definição de Espécies Invasoras Exóticas (EIE) para a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) e a definição de pragas quarentenárias no âmbito da Convenção Internacional de Proteção dos Vegetais (CIPV) envolvem qualquer organismo que causa danos às plantas e cuja introdução e ou dispersão ameaça a diversidade biológica, resultando ou não em impacto socioeconômico e ambiental. O Acordo sobre a Aplicação de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias (Acordo SPS) / Organização Mundial do Comercio (OMC), define avaliação do risco como: "a avaliação da possibilidade de entrada, estabelecimento ou propagação de praga ou doença dentro do território de um país Membro importador, de acordo com as medidas sanitárias ou fitossanitárias que podem ser aplicadas, e o potencial biológico e consequências econômicas associadas; ou a avaliação dos efeitos adversos potenciais para a saúde humana ou animal, advindos da presença de aditivos, contaminantes, toxinas ou organismos causadores de doenças nos alimentos, bebidas ou rações" (OLIVEIRA et al., 2006).

Entretanto, não existem, no Brasil, informações científicas (conhecimento de fatores) e metodologia para predição do potencial de impactos econômicos de todas as pragas quarentenárias (A1 e A2).

Conforme a eminente possibilidade ou a

concreta introdução de uma EIE é que se mobilizam esforços para realização de pesquisa e trabalhos científicos para subsidiar políticas de contenção de sua dispersão no território nacional.

A *Ostrinia nubilalis* (conhecida internacionalmente como "European Corn Borer"), é um inseto lepidóptero caracterizado como praga quarentenária no Brasil; por outro lado, é um inseto-praga que causa danos severos à cultura do milho em diversos outros países produtores, como Estados Unidos e Canadá. Uma vez que o Brasil, eventualmente, importa milho em grão para consumo, e como se intensifica o intercâmbio de germoplasma devido ao advento da autorização do cultivo de milho transgênico no País, tornam-se elevados os riscos de introdução de EIE ligadas à esta cultura.

Através do levantamento de fatores que afetam impactos econômicos desta praga com risco de introdução no Brasil é possível simular seu comportamento e modelagem. Assim, consegue-se obter informações técnico-científicas e dar suporte a políticas públicas mais eficientes para o sistema de defesa fitossanitária governamental, evitando, assim, prejuízos ao agronegócio nacional.

O objetivo deste trabalho é de realizar uma revisão bibliográfica com levantamento dos aspectos descritivos gerais da praga quarentenária *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae) na cultura do milho.

Cultura do Milho no Brasil

O milho é cultivado em todo território brasileiro, se destacando por ocupar extensa área cultivada no País. Sua importância reside ainda em sua capacidade de empregar grande contingente de mão-de-obra, gerar emprego e renda no setor rural. Além disso, no Brasil, o milho se destaca como o segundo maior valor da produção do agronegócio brasileiro, sendo superado apenas pela soja (SOUZA e BRAGA, 2004). Segundo Conab (2008) a área plantada com milho na safra de 2007/2008 foi de 14,7 milhões de hectares e o volume de produção foi de 58,6 milhões de toneladas, sendo o segundo produto mais importante no agronegócio brasileiro depois da soja. Por suas características fisiológicas, a cultura do milho tem alto potencial

produtivo, já tendo sido obtida produtividade superior a 16 t ha⁻¹, em concursos de produtividade de milho conduzidos por órgãos de assistência técnica e extensão rural e por empresas produtoras de semente. No entanto, em 2006, o nível médio nacional de produtividade era muito baixo, cerca de 3.250 kg ha⁻¹, demonstrando que os diferentes sistemas de produção de milho deverão ser ainda bastante aprimorados para se obter aumento na produtividade e na rentabilidade que a cultura pode proporcionar (CRUZ et al., 2006).

Dados mais recentes apontam pouco avanço nesta matéria, conforme ilustrado em trabalho de Bahia Filho et al. (2008), que citam uma produtividade média nacional de milho (entre os 2005 e 2007) de 3.391,33 kg ha⁻¹ na safra normal, e 3.057 kg ha⁻¹ na safrinha, porém de maneira muito variável em diferentes regiões, como por exemplo, o Centro-Oeste com média de 5.066 kg ha⁻¹ na safra e 3.461,67 kg ha⁻¹ na safrinha, e Norte/Nordeste 1.311,67 kg ha⁻¹ na safra e 1.261,67 kg ha⁻¹ na safrinha. Os mesmos autores indicam que as pragas da cultura do milho têm sido fator limitante ao aumento da produtividade ou lucratividade do agricultor. Citam ainda que, pelo predomínio do controle químico, o número de aplicações pode chegar, rotineiramente, a três ou, em casos extremos, a dez vezes.

Conforme Cruz (2004), o ataque de pragas, sem dúvida, tem sido um componente muito importante que contribui para a queda nos rendimentos de milho, e infelizmente, este tema não tem recebido a atenção devida. Às vezes, na existe tratamento fitossanitário ou a sua utilização é de modo incorreto. Cruz et al. (2007) relatam a ocorrência de insetos-praga em lavouras milho que, juntos ou individualmente, podem afetar significativamente o seu potencial produtivo. É possível encontrar em determinada região ou determinado ano agrícola, a presença de espécies de pragas que têm a capacidade de reduzir o número ideal de plantas, seja por danificar e matar a semente logo após o plantio, ou a plântula antes ou após a emergência. No entanto, como pode haver ataques por mais de uma espécie, o somatório das perdas pode atingir valores significativos, a ponto de comprometer a rentabilidade do agronegócio. Muitos autores relatam que as principais pragas que atacam a cultura do milho no Brasil são *Elasmopalpus lignosellus*, *Spodoptera*

frugiperda, *Diatrea saccharalis* e *Heliothis zea* (CARVALHO, 1987; CRUZ e WAQUIL, 2001).

Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), o controle de pragas é uma das atividades de grande importância econômica da cultura do milho, e para tal deve-se conhecer os princípios de controle, os produtos registrados e disponíveis no mercado, e, as pragas existentes. Entretanto, nem todas as pragas que atacam o milho são pragas-chave, ou seja, aquelas pragas freqüentes que apresentam surtos severos todos os anos. As espécies e a intensidade de danos variam de acordo com a região onde está a cultura agrícola. Geralmente, as pragas introduzidas de outros continentes tornam-se pragas-chave por não encontrar na nova região os inimigos naturais.

Para efeito de manejo ecológico de pragas, torna-se necessário conhecer os diferentes níveis de manifestação de pragas e inimigos naturais segundo a capacidade de causar danos (pragas) ou evitar que eles aconteçam (inimigo natural). Nível de Dano Econômico é a mais baixa densidade populacional de um inseto que irá causar dano econômico, que a rigor, é dependente do preço de mercado do produto agrícola e do custo do controle a ser implementado (FANCELLI e DOURADO NETO, 2000).

Histórico e Danos por *O. nubilalis* na Cultura do Milho

A *O. nubilalis* ("European Corn Borer") é uma lagarta (ou broca) que chegou aos Estados Unidos, provavelmente, em um carregamento marítimo de linho, em 1914, sendo reportada como inseto-praga na cultura de milho em 1917, em Massachusetts por S.C. Vinal. Em poucos anos se espalhou pela Costa Leste e Canadá. Diferentes pontos de introdução e dispersão pelo transporte agrícola foram determinantes para o rápido estabelecimento na Costa Oeste. Relatos identificam sérios danos e queda de produtividade de milho em Ontário, em 1927. Em 1936, atinge o Centro-Norte, encontra-se amplamente disseminada no "Corn Belt", e atinge outras regiões como o Sul dos EUA. Em 1950, já estava na Região das Montanhas Rochosas, Estado do Colorado (DICKE, 1977; BARRY e DARRAH, 1994).

Hoje, a *O. nubilalis* é o mais nocivo inseto-praga de milho nos Estados Unidos e

Canadá. Perdas resultantes dos danos desta lagarta e os custos para seu controle ultrapassam US\$ 1 bilhão por ano. Por exemplo, a perda durante um único surto em 1995, no Estado de Minnesota, ultrapassou US\$ 285 milhões. Um recente estudo realizado em Iowa indicou perda média de 13 bushels por acre na primeira e segunda gerações da lagarta, e o total final de 25 bushels por acre (OSTLIE et al., 2008). Em milho cultivado para grão nos EUA, os relatos de perdas de rendimento devido à lagarta *O. nubilalis* de primeira e de segunda geração são principalmente perdas fisiológicas, ao invés de danos em espigas. Híbridos com resistência à primeira geração

(resistentes a desfolha) podem reduzir tais perdas. No entanto, até agora, esses híbridos não tiveram o rendimento potencial dos híbridos mais suscetíveis. Híbridos de ciclo mais longo tendem a ser mais suscetíveis a segunda e terceira geração da lagarta; porém, eles geralmente têm um maior potencial produtivo que compensa o aumento da susceptibilidade. Perdas de rendimento ocorrem durante todas as fases de desenvolvimento milho (Quadro 1) e podem ser extremamente elevadas durante infestações graves, especialmente se o dano inicia antes do enchimento da espiga (Iowa State University, 2008).

Quadro 1 – Perda de rendimento de milho causada pela lagarta *O. nubilalis* e nível de dano econômico (lagarta por planta) em diversas fases do crescimento de milho. Iowa State University, Ames, Iowa, EUA.

Perda/lagarta/planta			
Estádio Fenológico	Proporção	Bushel/acre	Nível de Dano Econômico* (larva por planta)
V10	0,059	8,3	1,01
V16 (pré-pendoamento)	0,050	7,0	1,19
VT (Polinização)	0,040	5,6	1,49
R2 (Grãos Bolha d'água)	0,031	4,3	1,93
R5 (Grão farináceo)	0,024	3,4	2,49

Fonte: Iowa State University, 2008

*Nível de Dano Econômico = Custo de Controle/PLxMVxEYxPC

Onde: Custo de Controle (uma aplicação) = US\$ 14,00 por acre; PL (proporção perda de rendimento por larva por planta); MV (valor venal) = US\$ 2,50 por bushel, EY (rendimento esperado) = 140 bushels por acre; PC (proporção de controle) = 0,67.

4. Aspectos Biológicos de *O. nubilalis*

4.1. Descrição Morfológica

A espécie *O. nubilalis* apresentam as sinônimas *Pyrausta nubilalis* (POOS, 1927) e *Micractis nubilalis* (PADIL, 2008). As mariposas adultas são pequenas, o macho tem envergadura de 20 a 26 mm e a fêmea tem envergadura de 25 a 34 mm (Figura 1a). A coloração das fêmeas é amarelo palha a marrom claro, com linhas escuras em 'zig-zag' através das asas. Os machos são mais escuros, usualmente marrom-pálido, com linhas escuras em 'zig-zag' através das asas. Ambos os sexos têm partes com cor amarelada a dourada na parte superior das asas (CAPINERA, 2008).

4.2. Ciclo de Vida

O. nubilalis pode ter de uma a quatro gerações em um ano, dependendo do clima

e da adaptação da espécie. Nos países de clima temperado onde esta praga ocorre, geralmente, a espécie passa o inverno no estágio larval, empupando e emergindo os adultos no início da primavera. A diapausa, aparentemente, é induzida pela exposição do último estádio larval a dias longos, mas também é um componente genético. As mariposas voam e ovipositam, normalmente, nos meses de junho-julho e agosto-setembro em áreas com uma ou duas gerações por ano (SOLOMON, 1995).

Em locais com três gerações os adultos voam e ovipositam em maio, final de junho e agosto. Nas regiões que a espécie completa 4 gerações por ano, que são regiões mais quentes, os adultos estão ativos em abril, junho, julho e agosto-setembro (CAPINERA, 2008). A dispersão do adulto pelo vôo pode ser de 1 a 20 km dependendo das condições do clima e dos ventos. Uma fêmea tem picos de ovoposição de até 60 ovos, colocando estes ovos no período noturno.

Os adultos vivem de 2 a 42 dias, vivendo em média 20 dias (POOS, 1927). Uma fêmea adulta pode ovipositar em torno de 400 a 600 ovos. A relação de machos e fêmeas é de 1:1,13 e os machos emergem primeiro que as fêmeas (HUDON e LEROUX, 1986b).

4.3. Ovo

A oviposição ocorre em grupos irregulares de 15 a 20 ovos na parte abaxial da folha, em torno de 2% das massas de ovos podem ser colocados na parte adaxial da folha (POOS, 1927). Os ovos são aproximadamente elípticos, achatados e com cor branco-creme com uma aparência iridescente (Figura 1b). Os ovos vão ganhando tonalidades mais escuras com o passar dos dias. Medem, aproximadamente, 1 mm de comprimento por 0,75 mm de largura. A temperatura limite para o desenvolvimento dos ovos é 15°C. As larvas eclodem em 4 a 9 dias (CAPINERA, 2008). A taxa de mortalidade varia em torno de 6 a 23% nesta fase, ocorrendo, principalmente, por parasitas e predadores (HUDON e LEROUX, 1986c).

4.4. Larvas

Medem em torno de 25 mm de comprimento com a cápsula cefálica de 2,2 mm quando

estão no último instar larval. Cabeça e tórax esclerotizados e mosqueado com preto. Corpo branco a rosa ou pardo a marrom claro com linhas escuras sobre o dorso. Subdorsal e linhas laterais de cor marrom claro. As larvas podem ser facilmente confundidas com outras lagartas na lavoura (Figuras 1c, 2a e 2b) (SOLOMON, 1995).

No campo o tempo de desenvolvimento da larva foi estimado em 9,0; 7,8; 6,0; 8,8; 8,5 e 12,3 dias para os estágios larvais de 1 a 6, respectivamente, completando o estágio de larva, aproximadamente, com 50 dias, mas deve-se considerar uma variação de acordo com as condições climáticas (CAPINERA, 2008). Alguns consideram apenas 5 estágios larvais (HUDON e LEROUX, 1986a) completando essa fase em 30 dias.

4.5. Pupas

As pupas têm coloração marrom claro a escuro, medem em torno de 14 a 17mm de comprimento. A mortalidade nesta fase é baixa em média 10% (HUDON E LEROUX, 1986c). As pupas ficam dentro de túneis na planta e se fixam com 5 a 8 espinhos recurvados no final do abdômen. O estágio pupal dura normalmente 12 dias sendo a temperatura limite para seu desenvolvimento 13 graus (CAPINERA, 2008)



(a)



(b)



(c)

Figura 1 – Adulto (a), ovos (b) e larva (c) de *O. nubilalis* em plantas de milho.
Foto: R. Coutin (Office pour les insectes et leur environnement – OPIE, France)



(a)



(b)

Figura 2 – Larva de *O. nubilalis* (a) e danos em plântulas (b).
Fotos: James Solomon, USDA Forest Service, Bugwood.org.

5. Aspectos do Controle de *O. nubilalis*

5.1. Medidas Fitossanitárias para Controle de *O. nubilalis*

O inseto *O. nubilalis* (Classe Lepidoptera) consta na lista de pragas quarentenárias ausentes (A1) emitida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2008). Portanto, trata-se de uma praga de importância econômica potencial para uma área em perigo, porém ainda não presente no território nacional (BRASIL, 2007). Desta forma, deve-se buscar melhor entendimento dos comportamentos biológicos de pragas quarentenárias visando melhor prevenção de riscos de introdução e dispersão, subsidiando políticas públicas e medidas fitossanitárias cabíveis. Entende-se por “Medida Fitossanitária” qualquer procedimento legislativo, regulatório ou oficial tendo como objetivo a prevenção de introdução e/ou dispersão de pragas quarentenárias (FAO, 2006).

Conhecer os efeitos do clima e do meio ambiente sobre a distribuição de insetos pragas pode ajudar no entendimento dos danos que estas podem causar ou em efetivos métodos de controle. Para cada espécie podemos ter alguns fatores que serão mais acurados para descrever sua distribuição, sejam fatores diretos (fatores climáticos) ou indiretos (fatores do relevo do terreno). Por exemplo, para a maioria das espécies a temperatura pode ser fator determinante em sua sobrevivência,

enquanto, a umidade relativa não causa restrição (ULRICHES e HOPPER, 2008). Desta forma, alguns trabalhos têm sido feitos no esforço de criar modelos que façam a previsão da distribuição e o monitoramento da população de uma espécie praga em cenários atuais do clima como em cenários futuros, como exemplo, o programa ECAMON para a espécie *O. nubilalis* presente na Europa (TRNKA et al., 2007). Desta forma, busca-se melhor entendimento dos comportamentos biológicos de pragas quarentenárias visando melhor prevenção de riscos de introdução e dispersão, subsidiando políticas públicas e medidas fitossanitárias cabíveis. Entende-se por “Medida Fitossanitária” qualquer procedimento legislativo, regulatório ou oficial tendo como objetivo a prevenção de introdução e/ou dispersão de pragas quarentenárias (FAO, 2006). Ou seja, trata-se de qualquer medida aplicada: a) para proteger a saúde ou vida humana, animal ou vegetal (dentro do território do país Membro) da entrada, estabelecimento e dispersão de pragas, doenças e vetores de doenças; b) para a prevenção ou limitação de outras ameaças (dentro do território do País) da entrada, estabelecimento e dispersão de pragas.

Um dos desafios da pesquisa agronômica é conhecer como será o comportamento desta espécie exótica nos ecossistemas brasileiros. Os estudos de biogeografia avaliam a presença de determinada espécie em um território influenciado pelas condições

climáticas, topografia e recursos alimentares. Para simulação da biogeografia de organismos, atualmente, utilizam-se diferentes ferramentas de geoprocessamento e geoestatística. Estudos da biogeografia de *O. nubilalis* avaliando sua capacidade de entrada, estabelecimento e dispersão no Brasil são fundamentais para a elaboração de Análise de Risco de Pragas (ARP) e podem servir como base para outros estudos de biogeografia de pragas quarentenárias A1 e A2.

5.2. Uso de Técnicas de Biologia Molecular na Identificação de *O. nubilalis*

As exigências para as ações fitossanitárias agregam valor aos produtos agrícolas, e também promovem a confiança do consumidor. A identificação rápida e acurada de pragas interceptadas é fundamental para a adoção de medidas de contenção. As principais barreiras para a identificação de diversas pragas são: presença de poucos caracteres morfológicos distintivos; ocorrência de espécies crípticas e a dificuldade em identificar a espécie em diferentes estágios de desenvolvimento. Neste caso, uma importante estratégia é a utilização de métodos que utilizam o DNA para a identificação rápida e acurada dessas pragas de expressão quarentenária ou de importância econômica para o Brasil. Assim, a utilização de técnicas de biologia molecular são vantajosas pois podem possibilitar: a) identificação rápida e segura a partir de um único indivíduo, independente do sexo ou estágio de desenvolvimento ou mesmo em organismos mortos; b) distinção de espécies crípticas; e, c) teste de rotina pode ser realizado por técnico capacitado após os marcadores específicos terem sido padronizados (NAVAJAS e FENTON, 2000; BEHURA, 2006).

A tendência geral para o diagnóstico de pragas é a integração das técnicas clássicas de identificação com aquelas utilizadas na biotecnologia. Neste contexto, a tecnologia que utiliza marcadores de DNA pode contribuir significativamente para a identificação de espécies de interesse. Diversos tipos de marcadores moleculares

estão hoje disponíveis diferenciando-se quanto à sua habilidade em detectar o polimorfismo, custo de aplicação, facilidade de uso e consistência dos resultados. O genoma nuclear possui vasta complexidade e muitas regiões têm se mostrado úteis para inferir relações filogenéticas (SELIG et al., 2008). Neste caso, as regiões 18S e 28S são conservadas e podem ser utilizadas para a diferenciação de reino, filo, classe, ordem e família. As regiões espaçadoras (*ITS – Internal Transcribed Spacer*) apresentam uma maior variabilidade e são utilizadas na diferenciação de gêneros, espécies ou entre populações. A heterogeneidade da estrutura do DNA pode ocorrer devido a polimorfismo de tamanho e/ou mutações pontuais nas seqüências ITS (WOLF et al., 2005; SELIG et al., 2008). Tradicionalmente, o DNA mitocondrial tem sido utilizado nos estudos de filogenias (BEHURA, 2006). Apesar dos marcadores mitocondriais e nucleares estarem sujeitos às mesmas forças evolutivas (ex.: mutação, fluxo gênico e deriva genética), diferenças referentes às taxas de mutação e o tipo de herança desses marcadores podem resultar à detecção de padrões distintos de variabilidade e subdivisão populacional. As seqüências parciais das regiões COI (codifica a enzima mitocondrial citocromo oxidase I) para *O. nubilalis* e disponível pelo código de acesso AY649321 no banco de dados *GenBank* estão descritas na Figura3 (NCBI, 2008).

Por sua vez, Agusti et al. (2005) desenvolveram marcadores moleculares específicos utilizando-se a região COI para detectar os parasitas de *O. nubilalis*: *Lydella thompsoni* e *Pseudoperichaeta nigrolineata*. As seqüências parciais das regiões COI para as espécies analisadas: *O. nubilalis*, *L. thompsoni* e *P. nigrolineata* foram obtidas utilizando-se os oligonucleotídeos universais de insetos (C1-J-1718 e C1-N2191). Neste caso, as seqüências dos parasitas e do hospedeiro foram alinhadas e comparadas para o desenvolvimento de oligonucleotídeos específicos para a identificação dos parasitas. Foram obtidos fragmentos de 191 e 91 pares de bases para *L. thompsoni* e *P. nigrolineata*, respectivamente.

```

1 tggaggattt ggaaatttat tagttcctct aatatttagga gctcctgata tagcattccc
61 acgaataaat aataataagat ttgttattt accccatca ttaacccttt taatttcaag
121 aagaatcggtt gaaaaatggag caggaactgg ttgaactgtt taccggccac tttcatctaa
181 tattgtctat ggaggttagat ctgttagacct agctatttt tcattacatt tagctggat
241 ttcttcaattt ttaggagcaa ttaacttcat tacaacaattt attaacaatac gaattaacgg
301 aatatctttt gatcaaatac cattattgtt atgatctgtt ggaattacag cattatttt
361 attattatca ctccctgttt tagctggagc tatcactata ttatataacag atcgaaattt
421 aaatacatca tttttgatc ctgctggagg aggagatcctt attttatatac aacattttt
481 ttgattttt ggacatccaa aagtttatata ttatataa ccggga

```

Figura 3 – Seqüência parcial do gene mitocondrial citrocromo oxidase I (COI) de *O. nubilalis*.
Fonte: NCBI (2008).

Estudos referentes à variabilidade genética de sete populações de *O. nubilalis* da América do Norte e da Europa revelaram que a região ribossomal ITS1 apresenta uma similaridade genética entre todas as populações analisadas (MARÇON et al., 1999). Em outro estudo, a região ribossomal (18S-ITS1-5,8S) de *O. nubilalis* foi utilizada para estimar a freqüência de predação de *Coleomegilla maculata* (HOOGENDOORN e HEIMPEL, 2001). Recentemente, Coates et al. (2008), obtiveram ESTs (Expressed Sequence Tags) de *O. nubilalis* genes envolvidos na digestão e resistência a toxina de *Bacillus thuringiensis* (Bt), os autores sugerem que as ESTs podem ser utilizadas para o desenvolvimento de marcadores moleculares.

5.3. Cálculo de Danos Econômicos para Controle de *O. nubilalis*

Para determinação do controle ou dos danos que *O. nubilalis* pode ocasionar nas lavouras algumas fórmulas foram desenvolvidas para determinar quando deve ser feita a aplicação de inseticidas. Abaixo segue duas fórmulas, propostas por Solomon (1995), uma para calcular o valor limite de indivíduos na lavoura a partir do qual as perdas ocorrerão e a outra fórmula serve para calcular (estimar um valor futuro) em uma área específica em determinado momento qual o tamanho da população de *O. nubilalis*:

- **Cálculo do limite de indivíduos por planta para ocasionar dano econômico:**

IP = CC / PP x VM x PE x PC, onde:

IP = valor limite de indivíduos por planta não causando perdas econômicas;

CC = Custo estimado do controle da praga (incluso o custo do inseticida e da aplicação);

PP = porcentagem estimada de perdas ocasionadas por lagarta por planta;

VM = valor de venda do milho;

PE = produção estimada kg/área;

PC = porcentagem de controle esperado se um inseticida for aplicado.

- **Cálculo da densidade populacional potencial:**

DPP = SI x NO x NP / OE, onde:

DPP = Densidade populacional potencial é o número de indivíduos (lagartas) por planta que pode ocorrer na área analisada;

SI = Média do número de indivíduos sobreviventes em cada estágio. É utilizado o valor padrão 0,20;

NO = número de ovos por postura. É utilizado o número padrão 23;

NP = número de posturas por planta baseado em contagem no campo;

OE = proporção de ovos já colocados baseado no vigésimo dia do período de postura no campo.

Se o valor calculado para a densidade populacional potencial for maior que o valor calculado para o limite de indivíduos por planta isto é um indicador que o controle da praga deverá ser realizado. O controle para a segunda geração de *O. nubilalis* deve ser realizado com a aplicação de inseticidas quando as larvas começarem a eclodir. O melhor controle de praga e retorno econômico terá êxito quando a eclosão das larvas coincidirem com o limite econômico alcançado. Existe certa dúvida sobre a eficiência de múltiplas aplicações de inseticidas para um período de oviposição maior da *O. nubilalis*. Algumas pesquisas indicam que uma aplicação realizada na época correta é suficiente para o controle. Se mais de um inseto-praga está atingindo a

lavoura além da *O. nubilalis* outras aplicações podem ser necessárias assim como as formulações líquidas são preferidas (SOLOMON, 1995).

5.4. Uso de OGMs para Controle de *O. nubilalis*

Borém et al. (2007b) definem OGM como "Organismo Geneticamente Modificado", ou seja, qualquer organismo vivo modificado por técnicas do DNA recombinante, isto é, organismo transgênico.

Existem diversas formas de controle de pragas, sendo que o ideal é a integração de métodos diferentes, como por exemplo, controle químico pelo uso de inseticidas, controle cultural, controle biológico com predadores e parasitóides, inseticidas microbianos, e mais recentemente, o uso de plantas geneticamente modificadas. O desenvolvimento da tecnologia de transformação genética em plantas permitiu que plantas de milho expressassem genes que codificam proteínas com ação tóxica aos insetos, como o caso de *Bacillus thuringiensis*, comumente referido como *Bt*. Esses genes são chamados de transgenes por serem transferidos assexualmente de uma espécie para outra. Plantas de milho geneticamente modificado ou transgênico que expressam a delta-toxina de *Bt* são referidas como milho *Bt*, originalmente, desenvolvido e avaliado com sucesso para o controle da *O. nubilalis*, que é uma praga-chave em milho na Europa e Estados Unidos (CRUZ, 2004).

De acordo com Borém e Giúdice (2004), as variedades *Bt* baseiam-se na utilização de híbridos de milho portadores de versões do gene *cry* oriundos de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, a mesma utilizada em formulações comerciais para controle biológico e de amplo uso na agricultura. Assim, estes genótipos geneticamente modificados expressam as toxinas *Bt* durante todo o ciclo de vida do milho, e desta forma várias gerações das pragas são expostas à toxina pela ingestão de tecidos vegetais. Diferentes versões do gene *cry* têm sido utilizadas por diferentes empresas, conferindo diferentes níveis de proteção. As principais vantagens desta tecnologia são a alta especificidade e eficiência contra insetos-alvo; ausência de efeitos negativos em outros insetos, mamíferos e seres humanos; degradabilidade

ambiental; e, segurança de manipulação e utilização. Os mesmos autores afirmam ainda que o milho *Bt* é amplamente cultivado nos Estados Unidos, Argentina, Canadá e Europa desde 1997, tendo na safra de 2001 alcançado uma área plantada de cerca de 7,7 milhões de hectares. Os autores citam James (2001), o qual informa que nos EUA os agricultores que utilizam esta tecnologia tiveram um ganho médio de US\$ 68,00 ha⁻¹, devido ao aumento da produtividade (média de 9%), menor gasto com inseticidas químicos e maior eficiência de controle de *O. nubilalis*.

Nos EUA, várias companhias de semente têm produzido híbridos de milho transgênico, expressando a proteína tóxica δ-endotoxina para resistência às duas gerações de *O. nubilalis*, os quais vêm sendo anualmente avaliados. Como as cultivares transgênicas de milho estão sendo desenvolvidas e comercializadas pelas empresas privadas, será necessária uma avaliação eficiente desses híbridos, realizada por instituições públicas. Entretanto, poucos estudos têm sido conduzidos para se avaliar a reação de milhos transgênicos em relação às pragas importantes para a agricultura brasileira (WAQUIL et al., 2002).

Fernandes et al. (2003), em sua revisão de literatura, citam Koziel et al. (1993) que obtiveram sucesso na inserção do gene *cry1Ab* em milho, sendo a proteína Cry1Ab expressa em altas concentrações nos tecidos da planta em testes de campo, com elevada eficiência no controle de *O. nubilalis*, tanto em relação ao consumo de folhas quanto à perfuração do colmo da planta. Já Armstrong et al. (1995), citados pelos mesmos autores, avaliando o potencial de várias linhagens de milhos geneticamente modificados, no controle de *O. nubilalis*, verificaram excelentes resultados quanto à resistência das plantas testadas a essa praga, levando à conclusão de que plantas geneticamente modificadas devem ser mais um componente do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

E em um dos poucos trabalhos referentes a este tema no Brasil, Fernandes et al. (2003), estudaram o comportamento do milho transgênico *Bt* MON810 no Brasil, e concluíram que a densidade populacional de *S. frugiperda* é menor ao longo do ciclo vegetativo da cultura, em relação ao milho convencional, demonstrando a ocorrência contínua de expressão da toxina Cry1Ab e

sua efetividade sobre a praga; que o milho *Bt* apresenta menor intensidade de danos por lagartas de *S. frugiperda* do que o milho convencional, sendo, portanto, efetivo na proteção da cultura em relação a esse lepidóptero.

Segundo Borém et al. (2007), atualmente, os cultivares de milho transgênicos apresentam mais de um gene de resistência a insetos, como *cry1Ab* e *cry3Bb1*. Além disso, outras estratégias vêm sendo empregadas para evitar o aparecimento de resistência por parte dos insetos, como por exemplo, uso de proteínas inseticidas oriundas de plantas (como as proteínas tipo lectina) e outros inibidores de enzimas hidrolíticas, uso de seqüências para proteínas hormonais de insetos e/ou oriundas de agentes de controle biológico, fusão de proteínas baseada em proteínas carreadoras como lectinas para transportar peptídeos tóxicos por meio da parede do intestino, entre outros.

6. Considerações Finais

A espécie lepidóptera *O. nubilalis* é uma praga quarentenária ausente no Brasil, e possui relevante importância em diversos países produtores de milho pelos severos danos que ocasiona a esta cultura. Neste trabalho, evidenciou-se a necessidade de se realizar levantamento de fatores que afetam os impactos econômicos de pragas com risco de introdução no Brasil visando à simulação de seu comportamento e modelagem, como é o caso da *O. nubilalis*. Para tal, é importante que se conheça aspectos da biologia, danos agronômicos e econômicos à cultura do milho, para se propor estratégias de prevenção de sua entrada no território nacional, bem como predizer os possíveis métodos de controle.

Referências Bibliográficas

AGUSTÍ, N.; BOURGUET, D.; SPATARO, T.; DELOS, M.; EYCHENNE, N.; FOLCHER, L.; ARDITI, R. Detection, identification and geographical distribution of European Corn Borer larval parasitoids using molecular markers. **Molecular Ecology**, Oxford, Inglaterra, v. 14, p. 3267-3274, 2005.

BAHIA FILHO, A. F. C.; GARCIA, J. C.; PARENTONI, S. N.; SANTANA, D. P.; CRUZ,

J. C.; SCHAFFERT, R. E. Impulsionando a produção e a produtividade de milho e sorgo no Brasil. In: ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, A. G. (Ed.). **Agricultura Tropical**: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 125-162. v.1.

BARRY, B. D.; DARAH, L. L. Impact of mechanisms of resistance on European corn Borer resistance in selected maize hybrids. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT THE INTERNATIONAL MAIZE AND WHEAT IMPROVEMENT CENTER, 1994. **Proceedings...** México: Cimmyt, 1994. p. 21-28.

BEHURA, S. K. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. **Molecular Ecology**, Oxford, Inglaterra, v. 15, p. 3087-3113, 2006.

BORÉM, A.; GIÚDICE, M. P. Cultivares transgênicos. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção de milho**. Viçosa: UFV, 2004. p. 85-108.

BORÉM, A.; ROMANO, E.; GROSSI DE SÁ, M. F. **Fluxo gênico e transgênicos**. Viçosa: UFV, 2007. 199 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 52, de 20 de novembro de 2007. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 21 dez. 2007. Seção 1, p. 31.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 41, de 01 de julho de 2008. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 jul. 2008. Seção 1, p. 8.

CAPINERA, J. L. **European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Insecta: Lepidoptera: pyralidae)**. University of Florida, Gainesville, FL, 2008. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN31300.pdf>>. Acesso em: 01 dez. 2008.

CARVALHO, R. P. L. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção de milho**. 2. ed.

Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 637-712.

COATES, B. S.; SUMERFORD, D. V.; HELLMICH, R. L.; LEWIS, L. C. Mining an *Ostrinia nubilalis* midgut expressed sequence tag (EST) library for candidate genes and single nucleotide polymorphisms (SNPs). **Insect Molecular Biology**, Oxford, Inglaterra, v. 17, n. 6, p. 607-620, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**: grãos – safra 2008/2009. Intenção de plantio: primeiro levantamento. Brasília: CONAB, 2008. 39 p.

CRUZ, I. et al. **Cultivo do milho**: pragas. 3.ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção de Milho, 2).

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de produção de milho**. Viçosa: UFV, 2004. p. 311-366.

CRUZ, I.; WAQUIL, J. M. Pragas da cultura do milho para silagem. In: CRUZ, I.; PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S. **Produção e utilização de silagem de milho e sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. p. 141-207.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F.; SANTANA, D. P. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. (Circular Técnica, 87).

DICKE, F. F. The most important corn insects. In: SPARGUE, G. F. (Ed.) **Corn and corn improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1977. p. 501-590.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 360p.

FAO. **Glossary of phytosanitary terms**. Secretariat of the international plant protection convention of the food and agriculture organization (FAO) of the United Nations. International standards for phytosanitary measures ISPM n. 5.

Secretariat of the International Plant Protection Convention. Rome: FAO/ONU. 2006. 23p.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; FERREIRA NETO, A.; 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**, Sete Lagoas, MG: Associação 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. C.; 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. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

HOOGENDOORN, M.; HEIMPEL, G. E. PCR-based gut content analysis of insect predators: using ribosomal ITS-1 fragments from prey to estimate predation frequency. **Molecular Ecology**, Oxford, Inglaterra, v. 10, p. 2059–2067, 2001.

HUDON, M.; LEROUX, E. J. Biology and population dynamics of the european corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Quebec I. Systematics, morphology, geographical distribution, host range, economic importance. **Phytoprotection**, Saint-Hyacinthe, Canadá, v. 67, p.39-54, 1986a.

HUDON, M.; LEROUX, E. J. Biology and population dynamics of the european corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Quebec II. Bionomics. **Phytoprotection**, Saint-Hyacinthe, Canadá, v.67, p.81-92, 1986b.

HUDON, M.; LEROUX, E. J. Biology and population dynamics of the european corn borer (*Ostrinia nubilalis*) with special reference to sweet corn in Quebec III. Population dynamics and spatial distribution. **Phytoprotection**, Saint-Hyacinthe, Canadá, v.67, p. 93-115, 1986c.

IOWA STATE UNIVERSITY. **How corn is damaged by the european corn borer**. Ames,

Iowa: Entomology Department, 2008.
Disponível em:
<<http://www.ent.iastate.edu/pest/cornborer/>>. Acesso em: 10 nov. 2008.

MARÇON, P. C.; TAYLOR, D. B.; MASON, C. E.; HELLMICH, R. L.; SIEGFRIED, B. D. Genetic similarity among pheromone and voltinism races of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). **Insect Molecular Biology**, Oxford, Inglaterra, v. 8, n. 2, p. 213-21, 1999.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Nucleotide**: AY649321.
Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.cgi?db=nuccore&id=49659896>>. Acesso em 11 dezembro 2008.

NAVAJAS, M.; FENTON, B. The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, p. 751-74, 2000.

OLIVEIRA, M. R.V.; NÁVIA, D.; MENDES, A. P. Insetos interceptados pela quarentena de pós-entrada de germoplasma vegetal no Brasil, de outubro de 1989 a dezembro de 1996. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, SP: Sociedade Entomologica do Brasil, v. 28, n. 3, p. 497-503, 1999.

OLIVEIRA, M. R. V. et al. **Segurança biológica para o agronegócio e meio ambiente**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 293p.

OSTLIE, K. R.; HUTCHISON, W. D.; HELLMICH, R. L. (Ed.). **Bt Corn e european corn borer**: long-term success through resistance management. Saint Paul, Minnesota: Communication and Educational Technology Services, University of Minnesota Extension, 2002. Disponível em:<<http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystems/DC7055.html>>. Acesso em: 10 novembro 2008.

PADIL. Pests and Diseases Image Library. **European Maize Borer**. Disponível em:<<http://www.padil.gov.au/simplePestSearchResults.aspx?fldKeywords=micractis>>. Acesso em: 12 dez. 2008.

POOS, F. W. Biology of the european corn borer (*Pyrausta nubilalis* Hübn.) and two closely related species in northern Ohio. **The Ohio Journal of Science**, v. 27, n. 2, p. 47-94, 1927.

SELIG, C.; WOLF, M.; MÜLLER, T.; DANDEKAR, T.; SCHULTZ, J. The ITS2 database II: homology modelling RNA structure for molecular systematics. **Nucleic Acids Research**, Oxford, Inglaterra, v.36, p.377-380, 2008.

SOLOMON, J. D. **Guide to insect borers of in North American broadleaf trees and shrubs**. Washington, DC: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, 1995. 735 p.

SOUZA, P. M.; BRAGA, M. J. Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil. In: GALVAO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Ed.). **Tecnologias de Produção de Milho**. Viçosa: UFV, 2004. p. 13-53.

TRNKA, M.; MUSKAB F.; SEMERADOVA, D.; DUBROVSKY M.; KOCMANKOVA, E., ZALUD, Z. European corn borer life stage model: regional estimates of pest development and spatial distribution under present and future climate. **Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 207, p. 61-84, 2007.

ULRICHS, C.; HOPPER, K. R. Predicting insect distributions from climate and habitat data. **BioControl**, Dordrecht, v. 53, p. 881-894, 2008.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (*Bt*) à Lagarta-do-Cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, MG, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

WOLF, M.; ACHTZIGER, M.; SCHULTZ, J.; DANDEKAR, T.; MÜLLER, T. Homology modeling revealed more than 20,000 rRNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) secondary structures. **RNA**, v. 11, n. 11, p. 1616-1623, 2005.

Circular Técnica, 82	Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia	Comitê de Publicações	Presidente: <i>Miguel Borges</i> Secretária-Executiva: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i>
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento	Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624 http://www.cenargen.embrapa.br e.mail:sac@cenargen.embrapa.br		Membros: <i>Diva Maria de Alencar Dusi</i> <i>Luiz Adriano Maia Cordeiro</i> <i>José Roberto de Alencar</i> <i>Moreira</i> <i>Regina Maria Dechechi G.</i> <i>Carneiro</i> <i>Samuel Rezende Paiva</i> Suplentes: <i>João Batista Tavares da Silva</i> <i>Margot Alves Nunes Dode</i>
	1 ^a edição 1 ^a impressão (2008):		Supervisor editorial: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i> Normalização Bibliográfica: <i>Rosamares Rocha Galvão</i>
			Editoração eletrônica: <i>Maria da Graça Simões Pires Negrão</i>
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento			