

MANEJO FITOSSANITÁRIO E AMBIENTAL: MILHO TRANSGÊNICO *Bt* E RESISTÊNCIA DAS PLANTAS AO ATAQUE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO

José Magid Waquil (1)

1. INTRODUÇÃO

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) promoveu ganhos significativos de produtividade do milho. A melhoria das plantadeiras e o tratamento de sementes para o controle das pragas iniciais reduziram as perdas de plantas produtivas. Entretanto, novos desafios surgiram para a proteção do potencial produtivo da lavoura. A lagarta-do-cartucho do milho (LCM), pela sua incidência em todo o ciclo da cultura e pela alta frequência, tornou-se praga-chave na cultura do milho, do sorgo e do algodão. Para o MIP da LCM, nas lavouras onde se utilizou o tratamento de sementes com inseticida à base de thiodicarb ou carbofuran, têm sido necessárias, em média, duas aplicações de inseticidas, sendo recomendados, preferencialmente, os seletivos. Entretanto, em alguns casos, mesmo com várias aplicações, não se tem obtido controle satisfatório.

A expansão do plantio direto, da safrinha e de culturas hospedeiras irrigadas têm contribuído para o aumento da densidade populacional de várias espécies-praga. Uma simples gradagem pode eliminar até em 50% as pupas da LCM no solo (Luginbill, 1928). Além da dessecação, o preparo do solo expõe os insetos à ação de vários inimigos naturais. Tanto a safrinha como os plantios irrigados, pelo suprimento de alimento para os insetos durante todo o ano, têm contribuído para o aumento da densidade populacional de insetos-praga.

(1) Engenheiro Agrônomo, PhD Entomologia, Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: waquil@cnpmis.embrapa.br

A rigor, efeito semelhante deveria ocorrer para a população de inimigos naturais, mas isso não tem sido observado e maior entendimento da dinâmica populacional da comunidade de insetos poderá trazer grandes benefícios ao manejo ambiental. Assim, esses sistemas têm promovido aumento da densidade populacional de insetos-praga que passam pelo menos uma de suas fases no solo como, por exemplo, os corós, a LCM, a lagarta-da-espiga e a broca-da-cana-de-açúcar, que passam a fase de pupa nos restos culturais das plantas hospedeiras.

Outras espécies de insetos, antes sem importância econômica, têm-se tornado importantes na cultura do milho. Na safrinha, quando ocorre o percevejo barriga-verde, tem sido utilizada uma aplicação de inseticida antes da emergência das plantas. Dependendo do local e da época, se houver histórico da ocorrência de enfezamentos e viroses, inseticidas à base de neonicotinóides têm sido recomendados para o tratamento de sementes visando ao controle da cigarrinha-do-milho. No Centro-Oeste, têm ocorrido surtos da broca-da-cana no milho. Em solos encharcados, devido à abundância de chuva ou irrigação, tem havido a incidência de larvas-de-diabrotica causando danos expressivos ao milho. Assim, mesmo com o uso do MIP, perdas significativas são registradas anualmente. Portanto, novas estratégias de controle devem ser desenvolvidas e, cada vez mais, será necessário um monitoramento minucioso da lavoura.

Finalmente, para o manejo das espécies-praga do milho sensíveis às toxinas do *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), como as da ordem Lepidoptera, o milho-*Bt* poderá trazer grandes benefícios e, nesse caso, o desafio será o manejo da resistência. Para a lagarta-do-cartucho, tanto no milho como em outras culturas transgênicas, um programa intensivo de monitoramento de resistência e a adoção de medidas alternativas com um forte componente biológico, serão fundamentais para reduzir a densidade populacional da LCM e os prejuízos por ela causados.

2. A LAGARTA-DO-CARTUCHO E O AGROECOSSISTEMA

O hospedeiro preferencial da lagarta-do-cartucho é o milho (Cruz, 1998), entretanto, na literatura estão registradas cerca de 101 espécies de plantas hospedeiras (Pogue, 1995). Uma análise do ciclo e do período de suscetibilidade das principais espécies hospedeiras cultivadas no verão, na safrinha e no inverno, nos diferentes agroecossistemas brasileiros, revela a abundância de alimento disponível para a LCM, durante todo o ano. Portanto, nas regiões tropicais, onde a temperatura não limita o desenvolvimento do inseto, ocorre superposição de gerações

e o crescimento populacional fica dependente da adaptação da lagarta aos diferentes hospedeiros e da ação dos outros agentes de controle, como os inimigos naturais ou o controle artificial feito pelo homem.

A LCM, além de polífaga, ataca as plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, deixando a planta hospedeira suscetível por longo período de tempo. Assim, o conhecimento da adaptação da LCM nos diferentes hospedeiros é importante para o entendimento da sua dinâmica populacional. Em estudos da biologia da LCM, em seis cultivares de milho, sorgo e milheto, observaram-se diferenças significativas. Nas observações realizadas 24 horas e seis dias após a infestação, não se verificaram diferenças significativas quanto à mortalidade larval entre as espécies avaliadas, exceto no milho MP 706, cuja mortalidade atingiu 87,5%. A mortalidade de pupa foi ligeiramente maior para as larvas que se desenvolveram no milheto, mas a taxa de adultos normais da *Spodoptera frugiperda* foi decrescente para as larvas desenvolvidas no milho, sorgo, milheto e milho MP 706. Mesmo em outros hospedeiros, como o sorgo selvagem e a soja, a taxa de sobrevivência da LCM foi acima de 80% (De Sá et al., 2005).

Embora a taxa de sobrevivência seja uma variável indicadora de adaptação, o importante na dinâmica populacional é a taxa de indivíduos férteis produzidos em cada hospedeiro. Em estudos realizados na Embrapa Milho e Sorgo, a diferença observada na taxa de indivíduos normais afetou a taxa de indivíduos reprodutivos, o número de posturas e o número de ovos, que, para os insetos desenvolvidos no milheto e no milho MP 706, foram significativamente menores. Entretanto, o número de ovos/postura e o número de posturas/fêmea foram semelhantes para os insetos desenvolvidos nos três hospedeiros. Esses resultados confirmam, também, o potencial que existe para se utilizar MP 706 como fonte de resistência genética natural do milho à LCM. Conseqüentemente, não se pode generalizar que o sorgo e o milheto sejam culturas mais resistentes que o milho à LCM, pois é grande a variabilidade entre as cultivares de cada cultura.

O período de desenvolvimento das larvas também é uma variável importante de indicação de adaptação. Segundo De Sá et al. (2005), o efeito do hospedeiro não foi significativo, quando a comparação foi baseada na média do período larval da LCM. Entretanto, quando se analisou o período larval por classe, para cada hospedeiro, notaram-se diferenças expressivas tanto na duração como no número de classes. Por exemplo, no milho, mais de 50% das larvas completaram o ciclo em 12 dias e na soja, no sorgo granífero, sorgo selvagem, no milheto e na braquiária, foi de 14 dias. No milho, foram observadas apenas três classes (10, 12 e 14 dias), mas, na soja foram seis classes (entre 12 e 24 dias).

Além dos fatores climáticos e dos hospedeiros, vários inimigos naturais como artrópodes, pássaros, vírus, bactérias, fungos e nematóides contribuem para o balanço das espécies em geral.

A introdução, o aumento e a preservação desses agentes de controle biológico são muito importantes para manter a população da LCM em equilíbrio e abaixo dos níveis de dano econômico.

Entre os inimigos naturais prevalentes na cultura do milho-safrinha, destacaram-se os percevejos (*Orius* spp.), em cerca de 10% das amostras, e a tesourinha (*Doru luteipes*) e joaninhas (ex. *Cycloneda sanguinea*), em menos de 5% das amostras. Várias outras espécies de inimigos naturais, como ocrisopídeos, carabídeos e coccinelídeos, também são observadas em lavouras de milho.

Há, ainda, várias espécies de parasitóides e microrganismos que desempenham papel importante na dinâmica populacional da LCM.

O grande desafio do manejo integrado para preservar o controle biológico das pragas na cultura do milho safrinha está no uso de métodos alternativos ou de produtos com alta seletividade para a utilização em situações emergenciais. Por outro lado, ainda há a necessidade da determinação dos níveis de não-controle em função da densidade populacional desses inimigos naturais para a tomada de decisão.

No trabalho de monitoramento de insetos, na cultura do milho safrinha, foram registradas também as principais estratégias de controle utilizadas pelos produtores.

Os resultados revelaram que cerca de 40% dos produtores utilizam o tratamento de sementes que protege as plantas contra os danos da LCM por cerca de 17 dias. Mais de 90% dos produtores utilizam pelo menos uma pulverização para o controle do percevejo barriga-verde ou da LCM, e um em cada dois produtores, utiliza duas pulverizações. Mesmo com a utilização dessas estratégias de controle, a incidência de plantas com danos da LCM variou de 20% a 30%.

Considerando a importância que essa praga tem para milho, algodão e sorgo, a utilização de cultivares resistentes, de qualquer dessas culturas, reduzirá significativamente a densidade populacional da LCM, beneficiando as culturas em geral.

Deve-se considerar, ainda, que o milheto utilizado como cultura de cobertura morta e onde não se faz o controle de pragas, pode, também, contribuir para aumentar a densidade populacional tanto da LCM como da broca-da-cana-de-açúcar.

3. RESISTÊNCIA NATURAL DO MILHO À LAGARTA-DO-CARTUCHO

Para resistência natural do milho a pragas, um grande esforço tem sido feito na avaliação de germoplasma e bem menos na seleção de cultivares resistentes. Os milhos amargos, do grupo antiga, foram registrados como resistentes à lagarta-do-cartucho. No CIMMYT, selecionou-se uma população (MIRT) e, no Missississipi, as populações MPs, com resistência múltipla a várias espécies-praga do milho, inclusive para a LCM. A antibiose e a não-preferência para alimentação e oviposição foram os mecanismos de resistência identificados no milho. Entre os híbridos comerciais, estudos revelaram que os híbridos G 550 e C 435 destacaram-se como os menos suscetíveis em teste de campo. Entretanto, como a resistência é muito afetada pelas condições ambientais, pequenas diferenças podem não ser significativas quando a cultivar é usada em lavouras comerciais sem chance de escolha pelo inseto. Na Embrapa, a partir da População MIRT, estão sendo selecionadas novas linhagens e avaliados híbridos experimentais para resistência à lagarta-do-cartucho.

4. RESISTÊNCIA DO MILHO-Bt À LAGARTA-DO-CARTUCHO

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (*Bt.*), estirpe HD1, vem sendo utilizada como bioinseticida há décadas (Feitelson et al., 1992) e está registrada, sem limitação de uso, para o controle de várias espécies-praga de Lepidoptera. Como foi constatada a existência de várias espécies de *Bacillus* e, dentro dessas espécies, várias populações e centenas de isolados, das mais diferentes regiões, estão hoje registrados na literatura.

As frações ativas produzidas pelo *Bt*, que são as proteínas acumuladas em forma de cristal no interior das células, podem constituir mais de 30% do total de proteínas da célula (Hermstadt et al., 1986). As seqüências gênicas conhecidas, responsáveis pela expressão dessas proteínas (toxinas), podem ser encontradas na Internet, no endereço:

http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt.

Genes codificando diferentes proteínas ativas contra insetos têm sido incorporados em diversas espécies vegetais como milho, algodão, arroz, entre outras, chamadas por isso de plantas transgênicas. Assim, essa tecnologia transformou-se em alternativa de controle de insetos menos agressiva ao ambiente.

Entretanto, para que seja uma opção sustentável é necessário atentar para o impacto dessa tecnologia na sociedade (como a dependência de uma tecnologia de domínio restrito) e no ecossistema, ou seja, nos organismos não-alvo (análise de risco) e desenvolvimento de populações de insetos resistentes a essas toxinas. Dessa forma, as plantas transgênicas podem ser uma alternativa viável, se empregadas dentro de uma visão do Manejo de Pragas em Grandes Áreas (Manejo Ecológico).

Os primeiros eventos expressando as toxinas do *Bt* em milho visaram, principalmente, ao controle da lagarta européia do milho, *Ostrinia nubilalis*. Posteriormente, houve a incorporação de novas toxinas abrindo a possibilidade para o uso no controle de várias outras espécies. Atualmente, existem vários eventos do *Bt* expressos em plantas de milho. De acordo com os dados registrados no Agbios (2002), os eventos, marcas e toxinas expressas pelos genes *bt_s*, apresentados na Tabela 1, estão sendo utilizados no controle de pragas em milho. Sabe-se que pelo menos as toxinas Cry 1A(b) e Cry 1A(c) atuam em um mesmo receptor ou sítio A e o Cry 9C no sítio B. Como os eventos *Bt*(s) têm sido obtidos por empresas privadas nos EUA, as pragas-alvo têm sido a lagarta-européia (*Ostrinia nubilalis*) e larvas-de-diabrotica (*Diabrotica* spp). Como nas Américas a lagarta-européia ocorre somente na América do Norte e, devido aos solos brasileiros serem bem drenados, as larvas-de-diabrotica têm importância apenas em áreas irrigadas ou anos muito chuvosos. Os transgênicos, atualmente desenvolvidos, têm ação pouco conhecida sobre as espécies-alvo nas condições brasileiras. Assim, estudos precisam ser desenvolvidos para avaliar a atividade desses eventos para as populações brasileiras das principais espécies-alvo.

Tabela 1. Eventos, marcas e toxinas de *Bt* registradas em milho transgênico (1)

Evento	Marca	Toxina
DBT-418	Bt Xtra [®]	Cry 1Ac
SYN-EV-176	Naturgard [®]	Cry 1Ab
MON 810	Yieldgard [®]	Cry 1Ab
SYN-Bt011.	-	Cry 1Ab
CBH-351	StarLink [®]	Cry 9C
MON80100	-	Cry 1Ab
MON802	Yieldgard [®]	Cry 1Ab
MON809	-	Cry 1Ab
TC1507	Herculex [®]	Cry 1F
MON-863	-	Cry 3Bb1

(1) Fonte: //www.agbios.com/dbase.php

Embora o bioinseticida à base de *Bt* (Dipel®) não tenha dado bons resultados no controle da lagarta-do-cartucho (LCM) (Waquil et al., 1982), tem-se observado, em plantas transgênicas com o gene *bt*, resistência à essa espécie-praga. Em teste de campo e em bioensaios, Williams et al. (1997) avaliaram oito híbridos simples de milho da Northrup King para resistência a *S. frugiperda* e *Diatraea grandiosella*. Verificaram que a área foliar destruída, a sobrevivência e o desenvolvimento dos insetos foram menores nos híbridos transgênicos.

Os autores concluíram que a expressão do gene *bt*, Cry 1A(b), produziu características de alta resistência a *S. frugiperda* e quase imunidade a *D. grandiosella*. Nesse ensaio, a *S. frugiperda* foi a menos sensível à toxina do *Bt*, mas observou-se redução na sobrevivência e no desenvolvimento das larvas alimentadas em dietas contendo palha (liofilizada) de milho transgênico. Nas dietas contendo apenas cabelo de bonecas de milho transgênico, não se observou mortalidade, mas notou-se uma redução significativa no desenvolvimento dos insetos (Williams et al., 1998b). Avaliando milho-*Bt*, expressando a toxina Cry 1A(b) (MON810®), em condições de campo, durante dois anos e em diferentes locais, Fernandes et al. (2003) observaram o controle eficiente da LCM.

Para avaliar a resistência à LCM, Waquil et al. (2002) desenvolveram um ensaio em campo com milho transgênico expressando as toxinas do *Bt* Cry 1F, Cry 1 A(b), Cry 1 A(c) e Cry 9C, segundo método preconizado por Williams et al. (1997; 1999) com pequenos ajustes. Nos resultados, verificaram-se diferenças significativas entre a maioria dos híbridos de milho e as testemunhas, para a maior parte das variáveis avaliadas. Não se observaram diferenças significativas ($P = 0,05$) entre as duas versões *Bt* (Cry 9C) versus não-*Bt*, dos híbridos Garst 8481 e Garst 8539, para todas as variáveis.

Com referência à produtividade, todos os híbridos transgênicos produziram mais que as respectivas testemunhas, mas, em alguns casos, essa diferença não foi significativa. Sabe-se que a produtividade é função de muitas variáveis, incluindo-se o potencial genético. Em alguns dos casos, como não foram obtidas as duas versões *Bt* e não-*Bt* dos híbridos, utilizaram-se versões com diferentes bases genéticas.

A densidade de larvas sobreviventes nas plantas reduz-se naturalmente, mesmo nos hospedeiros mais suscetíveis. Assim, com base em uma média de 50 larvas/planta da LCM, colocadas inicialmente, nas testemunhas já se observavam em torno de 8 larvas/planta aos 10 dias e 4 larvas/planta aos 15 dias após a infestação.

Tanto aos 10 como aos 15 dias após a infestação, observaram-se diferenças significativas entre os híbridos quanto ao número médio de larvas sobreviventes (Figura 1). Do elenco de híbridos testados, notaram-se três grupos: resistentes – híbridos 2722 IMI, Pioneer 34G82, 34K87 e DK 551, em que os híbridos Pioneer 34K87 e 2722 IMI têm média inferior a uma larva viva a cada 10 plantas, nas contagens realizadas aos 10 e 15 dias após a infestação; intermediários – Mp704 X Mp707, 2717 IMI e Max 454R80, cujas médias variaram de 1,8 a 3,1 larvas vivas/planta nas duas amostragens; suscetíveis – DK618 e os híbridos Garst 8481 e Garst 8539, nos quais foram encontradas de 3,9 a 6,8 larvas vivas/planta, em média. Nesse último grupo não houve diferença significativa entre os milhos transgênicos e as testemunhas suscetíveis. Williams et al. (1997 e 1998b) observaram redução no número de larvas sobreviventes nos genótipos de milho expressando a toxina do *Bt* Cry 1 A(b).

A biomassa da maior larva encontrada em cada planta, 15 dias após a infestação, variou de 0 a 146 mg nos híbridos transgênicos e chegou a mais de 200 mg no híbrido Pioneer 3162, usado como testemunha. Em geral, os híbridos transgênicos diferiram das testemunhas, exceto Garst 8481 e Garst 8539 (Cry 9C). Baseando-se na biomassa das larvas sobreviventes nos 10 pares de híbridos avaliados, como no item anterior, os híbridos puderam ser separados em três grupos: resistentes - híbridos 2722 IMI, Pioneer 34G82, 34K87 e DK 551, no qual as larvas sobreviventes acumularam menos de 6 mg de biomassa, em média; intermediários – Mp704 X Mp707, 2717 IMI e Max 454R80, cuja biomassa média das larvas sobreviventes variou de 43,90 a 61,97 mg e suscetíveis – DK618 e os híbridos Garst® 8481 e Garst 8539, em que as larvas sobreviventes apresentaram biomassa entre 107,10 e 146,60 mg. Williams et al. (1997 e 1998a) observaram também menor acúmulo de biomassa de larvas sobreviventes nos genótipos de milho expressando a toxina do *Bt* Cry 1 A(b).

O dano causado pela LCM, estimado através da escala visual de notas de Davis e Williams, (1989), variando de 0 a 9, foi a variável com menor erro experimental. Portanto, foi a que melhor discriminou os tratamentos. Observou-se que os híbridos de milho transgênico - 2722 IMI, Pioneer 34G82 e 34K87, DK 551, 2717 IMI e o híbrido com resistência natural Mp704 X Mp707 - diferiram significativamente das testemunhas. Entretanto, os híbridos Max 454, DK 618 e os Garst 8481 e Garst 8539 não diferiram das testemunhas, nem entre eles. Usando a nota de dano foliar como critério, os 10 híbridos avaliados foram agrupados em 5 categorias: altamente resistente – 2722 IMI (Cry 1F); moderadamente

resistentes – Pioneer 34G82, 34K87 e DK 551 [Cry 1 A(b)]; intermediário – Mp704 X Mp707 (resistência natural); moderadamente suscetível – 2717 IMI; e altamente suscetível - Max 454, DK 618 e Garst 8481 e Garst 8539, assim como todos os híbridos usados como testemunha.

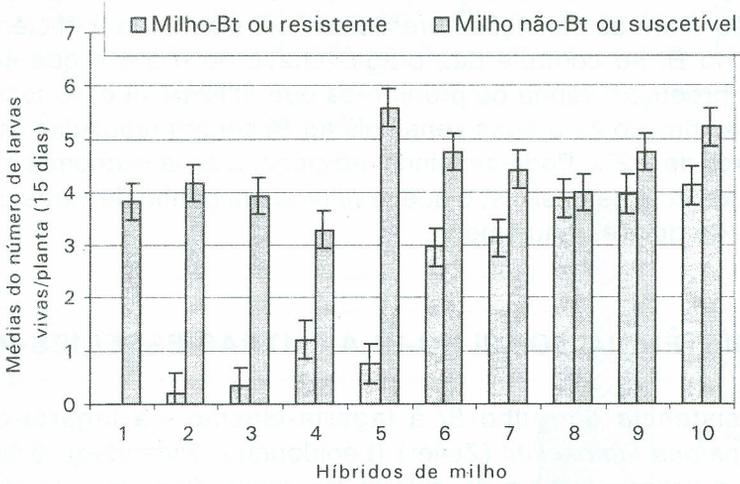


Figura 1. Médias (\pm erro-padrão) do número de larvas vivas/planta, coletadas 15 dias após a infestação artificial pela lagarta-do-cartucho em híbridos de milho com resistência natural (5) e híbridos-Bt(s), expressando as toxinas: 1-Cry 1F; 2-Cry 1A(b); 3-Cry 1A(b); 4-Cry 1A(b); 6-Cry 1A(b); 7-Cry 1Ac; 8-Cry 1A(c); 9-Cry 9C; 10 Cry 9C e híbridos não-Bt(s).

Sendo a produção de grãos característica de herança quantitativa, muitos fatores afetam essa variável e sua correlação com uma característica fenotípica única, geralmente, é baixa. Assim, notou-se grande variação nos resultados devido às diferentes bases genéticas de cada híbrido.

Em geral, os híbridos de milho transgênico resistentes produziram cerca de 32% a mais que as testemunhas suscetíveis, com base no peso de grãos corrigido para 13% de umidade. Essa média está dentro dos limites estimados para as perdas causadas pela LCM (Carvalho 1970, Cruz e Turpin 1983 e Williams e Davis 1990). Duas exceções foram observadas: o híbrido Mp704 X Mp707 e sua respectiva testemunha que, devido à sensibilidade ao fotoperíodo, não floresceu e a produção foi nula, e o híbrido Garst 8481 que produziu praticamente igual à testemunha.

Comparando-se a produtividade somente entre os híbridos transgênicos, nota-se que os híbridos Pioneer 34K87, 2717IMI e DK 618 diferiram significativamente dos demais. Por esses resultados, nota-se que pode ser obtida maior produtividade com a incorporação do gene *bt* (expressando a toxina Cry 1F) em genótipos com maior potencial de produção. Para as condições brasileiras, considerando a eficiência das toxinas do *Bt* no controle das pragas-chave no milho e que cerca de 50% da produção venha de produtores que utilizariam essa tecnologia, as perdas devido às pragas sensíveis ao *Bt* seriam reduzidas de 12,4% para cerca de 2,2%. Pode-se, ainda, adicionar a essa economia a metade dos gastos com defensivos, o que resultaria um ganho de cerca de 518,3 milhões de dólares anualmente.

5. RESISTÊNCIA DO MILHO-Bt A OUTRAS ESPÉCIES-PRAGA

Resistência do milho-*Bt* à lagarta-elasma - a lagarta-elasma, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), é uma das principais pragas iniciais da cultura do milho. Para seu controle tem sido adotado o tratamento de sementes, porém, sem alcançar a eficiência desejada. Mesmo a pulverização das plântulas após o início da infestação não tem sido efetiva, pois quando se detecta a infestação pela presença de plantas mortas, já ocorreram perdas e o tempo gasto na operação de controle pode ser crítico, pois a infestação se dá em curto período de tempo. Portanto, a resistência por meio da transgenia pode ser uma solução de grande impacto no manejo dessa espécie.

Em casa de vegetação, Vilella et al. (2000) avaliaram plântulas de milho transgênico para a resistência à lagarta-elasma. Nesse ensaio, foram avaliados híbridos de milho-*Bt* expressando as toxinas Cry 1A(b), Cry 1F e Cry 9C e um híbrido não-*Bt*, em dois estágios de desenvolvimento (3 e 4 folhas) e sob quatro temperaturas (20; 24; 28 e 32 ± 0,7 °C). Neste trabalho não foram observadas diferenças significativas, entre os híbridos transgênicos, para as seguintes variáveis: número de plantas mortas e biomassa dos insetos sobreviventes (Figura 2). Entretanto, houve diferença significativa, para ambas as variáveis, entre os híbridos-*Bt* e o não-*Bt*, demonstrando ser possível controlar a lagarta-elasma usando essa tecnologia.

Resistência do milho-*Bt* às brocas-de-colmo - a broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) tem aumentado de importância para a cultura do milho, sorgo e arroz, principalmente na Região Centro-Oeste do Brasil. Como as fases de larva e de pupa se

desenvolvem dentro do colmo das plantas, a utilização do milho como cobertura pode contribuir para o aumento da população dessa espécie no agroecossistema. Vários trabalhos têm avaliado o milho-*Bt* para resistência às espécies de brocas-do-colmo. Avaliando o efeito da irrigação em dois anos de ensaio com milho-*Bt*, expressando o evento MON810, Castro (2002) verificou grande diferença entre o milho-*Bt* e o não-*Bt* para as variáveis indicadoras de danos das brocas (Figura 3). Portanto, a toxina expressa pelo gene *bt* no milho protege a planta contra a infestação pelas brocas-de-colmo.

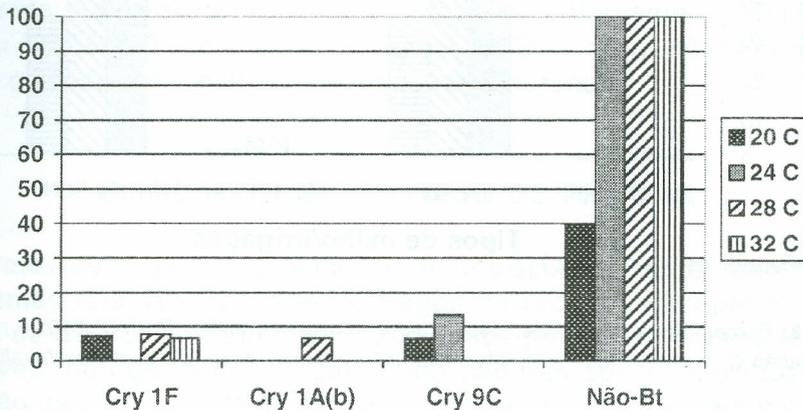


Figura 2. Porcentagem de mortalidade de plântulas de milho-*Bt* e não-*Bt* (testemunha) sob infestação artificial da lagarta-elasma e mantidas sob diferentes temperaturas.

Resistência do milho-*Bt* à lagarta-da-espiga - a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddy) (Lepidoptera: Noctuidae), constitui-se em uma das pragas mais importantes pela sua ocorrência endêmica e pela dificuldade de seu controle. Além de seus danos diretos, que podem chegar a 8%, causa danos indiretos pela abertura da espiga facilitando a entrada de outras pragas, umidade e fungos causadores de podridões. Comparando-se oito híbridos simples de milho da Northrup King, nas suas versões normais e transgênicas para resistência à lagarta-da-espiga, Williams et al (1998b) observaram 100% de mortalidade.

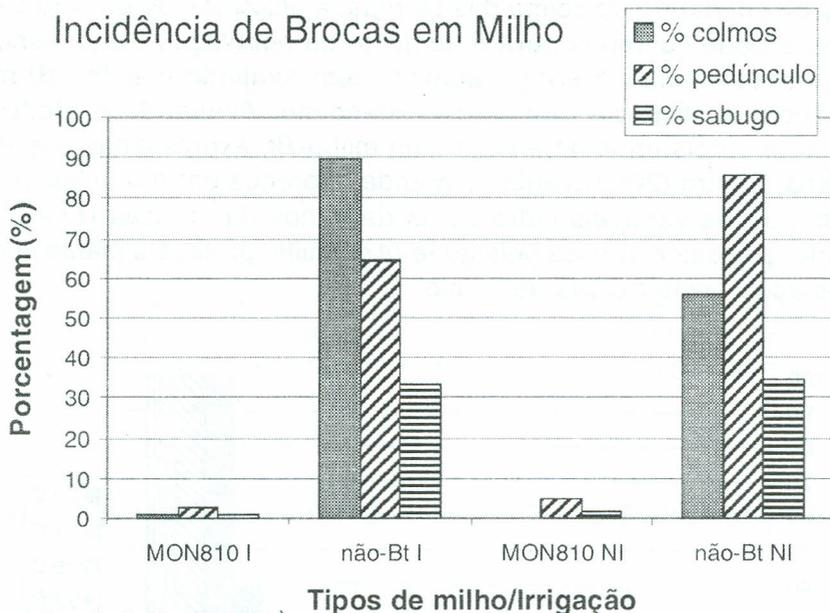


Figura 3. Porcentagem de colmos, pedúnculo e sabugo de milho, *Bt* (MON810) e não-*Bt*, sob irrigação (I) e não-irrigado (NI), infestados pela broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (F.).

Resistência do milho-*Bt* à lagarta-rosca - a lagarta-rosca tem hábito semi-subterrâneo e utiliza um número muito grande de hospedeiro como o aspargo, feijão, algodão, amendoim, hortícolas em geral, etc., com preferência especial para o milho. Os danos da lagarta-rosca são maiores em solos aluviais e argilosos, principalmente sob o sistema de plantio direto e/ou onde o controle de plantas daninhas não é bem feito. O controle dessa espécie é feito com base no uso de inseticidas aplicados em pulverização (clorpirifós e piretróides) ou por meio de iscas tóxicas. Nesse caso, têm sido recomendado, inclusive, os bioinseticidas à base de *Bt*, como o Dipel®, indicando, assim, a suscetibilidade dessa lagarta às toxinas do *Bt*. Em estudos realizados com exotoxinas do *Bacillus cereus*, de onde se isolaram as proteínas VIP 1A(a) e VIP 2A, observou-se que essas toxinas foram altamente eficientes, causando 100% de mortalidade à lagarta-rosca. Da mesma forma, a eficiência da proteína VIP 3A(a) foi de 100% no controle dessa espécie.

Resistência do milho-*Bt* à larva-de-diabrotica - as larvas-de-diabrotica, *Diabrotica* spp., são formas imaturas dos besouros conhecidos popularmente por patriota ou vaquinha. No Brasil, ainda são necessários estudos detalhados sobre esse grupo, mas sabe-se que ocorrem pelo menos duas espécies, *Diabrotica speciosa* (Germar) e *Diabrotica viridula* (F) (Rosseto et al., 1989). Em vários trabalhos foi demonstrada a ineficiência das endotoxinas do *Bt* sobre as larvas de *Diabrotica* spp. Entretanto, como citado por Warren (1997), toxinas produzidas durante o desenvolvimento vegetativo do *Bacillus cereus*, denominadas "Vegetative Insecticidal Protein" ou simplesmente "VIPs", têm boa atividade inseticida sobre esse grupo de insetos. Recentemente, a Monsanto lançou o MON 863 expressando a toxina Cry 3Bb₁ com atividade exclusiva sobre coleópteros, como as espécies de *Diabrotica*.

6. MILHO-Bt E O MANEJO DE PRAGAS

Possivelmente, a tecnologia *Bt*, hoje disponível, pode resolver os problemas relativos aos insetos pragas da ordem Lepidoptera e das larvas-de-diabrotica. Pelo menos três outros problemas críticos (corós, percevejo barriga-verde e cigarrinhas) poderão ser amenizados pela redução da aplicação de defensivos agrícolas e aumento da população de inimigos naturais nas lavouras com milho-*Bt*. Para as pragas alvo do milho-*Bt*, o monitoramento continuaria sendo necessário dentro de um programa de manejo da resistência.

O que se preconiza para o manejo da resistência dos insetos às toxinas do *Bt* tem por base o uso de alta dose da toxina e a área de refúgio, recomendando-se ainda o monitoramento e o manejo integrado (Ilsj, 1998). As análises de risco são necessárias para que se saiba "a priori" os riscos envolvidos, o que se pode ou não fazer e o que se espera. Juntamente com essas análises de risco, precisam ser desenvolvidas pesquisas básicas para que cada vez mais essa análise de risco se aproxime da realidade. Esses estudos envolvem o conhecimento da linha básica de suscetibilidade da população-alvo e dos mecanismos de resistência, ou seja, como as toxinas agem. A determinação da frequência de gene de resistência na população natural constitui uma das informações essenciais para a avaliação dos riscos. Para que essas determinações sejam confiáveis, há necessidade de metodologias bem definidas e padronizadas a fim de permitir comparações de trabalhos provenientes de diferentes regiões. São necessários, também, mais estudos sobre a bioecologia das espécies-alvo e os impactos sobre os organismos não-alvo.

Há, também, a necessidade de uma revisão dos conceitos de alta dose, área de refúgio e dos modelos utilizados. Será que os níveis de toxinas, hoje considerados alta dose, são satisfatórios ou será necessário aumentar ou diminuir essas doses expressas nos tecidos das plantas transgênicas? Qual é o custo metabólico dessas toxinas para as plantas? Será que os desenhos das áreas de refúgio, hoje recomendados, são os mais eficientes? É possível que a proporção e o desenho da área de refúgio dependam tanto das espécies-alvo como das culturas em questão.

Para o manejo da resistência, deve-se utilizar, além das estratégias de alta dose e áreas de refúgio, todas aquelas disponíveis, incluindo a associação da resistência através da transgenia com a resistência natural.

As ações de manejo devem ter uma perspectiva estratégica com uma visão holística do agroecossistema. É possível que em breve haja condições de manipular os genes dentro do agroecossistema, de modo que se obtenha resultados muito específicos e com muito pouco impacto no ambiente. Hoje, deve-se observar o ecossistema como uma unidade, operando uma teia de interações, onde qualquer mudança pode ter conseqüências distantes. Portanto, cada agroecossistema deverá ser analisado como um “*pool* gênico” e com uma variabilidade do tamanho da sua biodiversidade.

O manejo dos agentes bióticos dentro desse sistema seria, na verdade, uma combinação de estratégias em que todos os fatores favoráveis devem ser utilizados para se convergir ao Manejo Ecológico de Pragas.

REFERÊNCIAS

AGBIOS, **Essential biosafety**, Editon 2. 2002. Disponível em:

<http://www.essentialbiosafety.info/main.php>.

CARVALHO, R. P. L., **Danos, flutuação populacional, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (Smith 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho em condições de campo**. 1970. 170 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CASTRO, B. **Evaluation of *Bacillus thuringiensis* transgenic field corn for management of Louisiana corn pests**. 2002. 190 p. (Dissertação de PhD) - Department of Entomology, Agricultural and Mechanical College, Louisiana State University. Disponível em: <http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-0414102-023909>

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1998. 45 p. (Circular Técnica, 21)

CRUZ, I; TURPIN, F. T. Yield impact of larval infestation of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to midwhorl stage of corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 76, p.1052-1054, 1983.

DAVIS, F. M.; WILLIAMS, W. P. Methods used to screen maize for and to determine mechanisms of resistance to the Southwestern corn borer and Fall armyworm. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON METHODOLOGIES FOR DEVELOPMENT HOST PLANT RESISTANCE TO MAIZE INSECTS, 1989, México. **Proceedings...** México: CIMMYT, 1989. p. 101-104

DE SÁ, V.G.M.; FONSECA, B.V.C.; BOREGAS, K.G.B; WAQUIL, J.M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (Smith)