

Interação silício e milho *Bt* (Cry 1A(b) e Cry 1F) no controle da lagarta-do-cartucho

Fabíola A. Santos¹, Thaís M. F. de Carvalho², Jair. C. Moraes³, Simone M. Mendes⁴, Octávio G. Araújo⁵; Kátia. G. B. Boregas⁶; Renata R. P. da Conceição⁷

¹Mestranda Agronomia/Entomologia - Departamento de Entomologia UFLA, Cx. P. 3037 37200-000 Lavras, MG faby_minduri@yahoo.com.br; ²Aluno do 4º ano da graduação em Ciências Biológicas/Unifem - estagiária Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas - MG; ³Professor Doutor do Departamento de Entomologia; ⁴Pesquisadora Doutora da Embrapa Milho e Sorgo - Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo/Sete Lagoas, MG; ⁵Aluno do 2º ano graduação em Ciências Biológicas/Unifem - estagiário Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas - MG; ⁶Doutora em ECMVS-UFMG; ⁷Aluna do 3º ano graduação em Ciências Biológicas/Unifem - estagiária Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas - MG

Palavras-chave: ácido silícico, *Spodoptera frugiperda*, *Zea mays*, milho transgênico, MIP.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais importantes do mundo por constituir a base da alimentação humana e animal (SILVA, 1995). A produção de milho tem se expandido fortemente para suprir a demanda gerada pelo crescimento populacional e, principalmente, pelo consumo de fontes de energia renováveis (SILVA, 2004). No entanto, a necessidade de compatibilização com custos de produção cada vez mais competitivos tem levado os agricultores à adoção de pacotes tecnológicos cada vez mais eficazes.

Na condução da cultura, muitos problemas são observados, sendo o principal deles a alta incidência de insetos-praga. A principal praga do milho no Brasil é a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), que ocorre em todo o ciclo da cultura causando consideráveis perdas na produção. A dimensão das perdas provocadas pode variar em função da cultivar utilizada, da fase fenológica, do sistema de produção empregado e do local de plantio (SARMENTO et al., 2002).

O controle da lagarta-do-cartucho, tradicionalmente realizado com o uso de inseticidas sintéticos, apresenta-se, muitas vezes, de baixa eficiência, podendo causar desequilíbrio ambiental. Contudo, o advento da biotecnologia trouxe alternativa para o manejo integrado de lepidópteros-praga na cultura do milho. Por meio de técnicas de biologia avançada, um gene de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) Berliner (1911) foi introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho *Bt*, conferindo diferentes padrões de resistência às espécies de lepidópteros-praga (WAQUIL et al., 2002). Os genes codificadores da toxina *Bt* (denominados genes *cry* ou genes *Bt*) introduzidos na planta têm ação efetiva no controle de lepidópteros e estão sendo utilizados no Brasil desde 2008. Após se alimentarem do milho *Bt* as lagartas ingerem a toxina que atua nas células epiteliais do tubo digestivo do inseto, causando a ruptura do mesmo, levando-as à morte (GILL et al., 1992).

É necessário considerar também fatores como a especificidade das toxinas expressas pelos genes *bt_s* (proteínas *cry*) às diferentes espécies-praga, pois a resposta em



cada espécie de lepidóptero é diferente. Waquil et al. (2002) estudaram a eficiência de nove híbridos de milho geneticamente modificados expressando as toxinas Cry 1A(b), Cry 1A(c), Cry 9C e Cry 1F e encontraram diferentes níveis de resistência à *S. frugiperda* nos híbridos expressando essas toxinas, sendo o Cry 1F altamente resistente, Cry 1A(b) resistente, Cry 1A(c) moderadamente resistente e Cry 9C suscetível. Fernandes et al. (2003) verificaram, para uma cultivar comercial expressando a toxina Cry 1A(b) em condições de campo, diferentes níveis de infestação de *S. frugiperda*, variando com o estágio fenológico da cultura, época do ano e localização geográfica do cultivo. Observa-se, assim, que a eficácia e expressão da resistência na planta são complexas e podem ser influenciadas tanto por fatores bióticos como abióticos. Em estudos preliminares realizados em campo, Mendes et al. (2009) mostraram uma maior especificidade de toxinas Cry 1F para *S. frugiperda*. Ressalta-se que na safra agrícola de 2009/2010 os produtores brasileiros puderam escolher entre híbridos contendo três eventos liberados comercialmente, sendo dois desses contendo as toxinas Cry 1 A(b) e um contendo a toxina Cry 1F.

Estudos têm mostrado que o silício pode estimular o crescimento e a produção vegetal por meio de várias ações indiretas, propiciando proteção contra fatores abióticos, como estresse hídrico, toxidez de alumínio, ferro, entre outros; e bióticos, como a incidência de insetos-praga (EPSTEIN, 1994). Dessa forma, a aplicação de silício na cultura do milho pode elevar o grau de resistência das plantas e, conseqüentemente, reduzir a infestação e os prejuízos causados por *S. frugiperda*.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do ácido silícico aplicado via solo e sua interação com o milho geneticamente modificado com o gene *Bt* contendo diferentes toxinas (Cry 1 A(b) e Cry 1F) e o respectivo isogênico não-*Bt* no controle de *S. frugiperda* em plantas de milho em condições de casa de vegetação.

Material e métodos

Avaliação do dano causado pela infestação de *S. frugiperda* em plantas de milho

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação da Embrapa Milho e Sorgo no período de março a abril de 2010. Foram utilizados, para os ensaios, híbrido expressando a toxina Cry 1 A(b) 30F35YG (Yeldgard – Monsanto), Cry 1 F, 30F35HX (Herculex – Dow Agrosience) e o respectivo isogênico não Bt 30F35. Foram utilizadas quatro plantas por vaso de 18 kg, contendo substrato composto de terra, adubado com 50g/100 kg de solo do formulado NPK 08-28-16 e Zinco, respectivamente.

Após dez dias da emergência das plantas foi aplicado o tratamento e cinco dias após a aplicação do ácido silícico, as plantas foram infestadas com cinco larvas recém-eclodidas por planta, provenientes de criação em laboratório.

Adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e 12 repetições. Foram testados os seguintes tratamentos: T1) milho não *Bt* + 1 litro de água; T2) milho não *Bt* + aspersão no solo, ao redor das plantas de cada vaso, com 1 litro de solução de ácido silícico a 1%; T3) Milho *Bt* Cry 1 A(b) + 1 litro de água; T4) Milho *Bt* Cry 1 A(b) + aspersão no solo, ao redor das plantas de cada vaso, com 1 litro de solução de



ácido silícico a 1%; T5) Milho *Bt* Cry 1 F + água; T6) Milho *Bt* Cry 1 F + aspersão no solo, ao redor das plantas de cada vaso, com 1 l de solução de ácido silícico a 1%.

As avaliações de danos foram realizadas sete, 14 e 21 dias após a infestação com escala de notas de zero a cinco, de acordo com metodologia adotada em Mendes et al. (2008). Aos 14 dias após a infestação, foram selecionados seis vasos por tratamento para avaliação do número de lagartas vivas e sua biomassa (mg). Para tanto, as plantas foram cortadas, levadas para laboratório e as lagartas encontradas foram individualizadas em copos plásticos de 50 ml devidamente identificados. Em torno de 21 dias após a infestação foram avaliados nos seis vasos restantes por tratamento o número e biomassa das pupas. As plantas foram cortadas e as pupas coletadas foram colocadas em copos plásticos de 50 ml devidamente identificados, sendo um por planta.

Preferência com chance de escolha

Foram semeadas cinco sementes do híbrido 30F35 em vasos com 2 kg de substrato composto de terra, adubado com 50g/100 kg de solo do formulado NPK 08-28-16 e Zinco, respectivamente. A aplicação do ácido silícico ocorreu 10 dias após a emergência das plantas e foram utilizados dois tratamentos e 16 vasos: T1- não *Bt* + 250 ml de água; T2- não *Bt* + aspersão no solo, ao redor das plantas de cada vaso, com 250 ml de solução de ácido silícico a 1%.

A preferência alimentar de *S. frugiperda* foi avaliada em testes de livre escolha em laboratório. As seções foliares, retângulos de 3,0 cm x 6,2 cm correspondente ao 30F35 sem aplicação de silício e quadrado de 4,5 cm de lado 30F35 com silício a 1%, foram obtidas das plantas de cada tratamento, as quais foram dispostas equidistantes em placas de Petri (20 cm de diâmetro). Imediatamente depois, 10 lagartas oriundas da criação de laboratório foram liberadas no centro das placas, vedando-se em seguida com filme de PVC. As placas foram escurecidas com jornal e mantidas em salas climatizadas regulada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ para evitar o efeito do fototropismo. O número de lagartas sobre as folhas de cada tratamento foi registrado após 24h da liberação. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 40 repetições.

Análise estatística: Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o pacote computacional SISVAR, versão 5.0 (FERREIRA, 2007). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultado e Discussão

Avaliação do dano de *S. frugiperda* em plantas de milho

O número e biomassa de lagartas e pupas encontradas nas plantas de milho dos diferentes tratamentos foram significativos, demonstrando mais uma vez a eficiência do ácido silícico aplicado em planta geneticamente modificada. Apesar do número de lagartas serem semelhantes, a biomassa é diferente. Houve diferença significativa na biomassa das lagartas entre o evento não *Bt* e Cry 1 A(b) com e sem aplicação de ácido silícico. A biomassa foi significativamente menor para os insetos que se desenvolveram em milho com



a aplicação de silício (Tabela 2). Nessas condições, espera-se, além de um menor dano à planta, uma maior suscetibilidade da presa ao ataque de inimigos naturais (MENDES et al., 2009).

Mesmo não tendo diferença no número de pupas do evento não *Bt* foi observada uma diferença significativa na biomassa, fato também observado por Sá et al. (2009), onde, em hospedeiros menos adequados para o desenvolvimento da lagarta-do-cartucho do milho, as pupas apresentaram menor biomassa. No evento *Bt* Cry 1 A(b) pode-se observar diferença significativa no número de pupas, assim como de lagartas, porém o mesmo não ocorreu para a biomassa. Segundo Mendes et al. (2009), em estudos com essa espécie existe uma correlação direta entre a biomassa de pupas da lagarta-do-cartucho e a fecundidade dos indivíduos.

Tabela 2 – Número e biomassa (mg) de lagartas aos 14 dias e pupas aos 21 dias de *Spodoptera frugiperda* nos diferentes tratamentos contendo milho *Bt* e ácido silícico

Tratamento	Número de Lagartas	Biomassa de Lagartas	Número de Pupas	Biomassa de Pupas
Não <i>Bt</i> sem ácido silícico	26,50 a	430,52 a	22,50 a	256,53 a
Não <i>Bt</i> com ácido silícico	12,50 b	332,74 b	21,50 a	200,27 c
Milho <i>Bt</i> Cry 1 A (b) sem ácido silícico	19,00 a	316,95 b	17,00 b	239,16 b
Milho <i>Bt</i> Cry 1 A (b) com ácido silícico	9,00 b	183,14 c	6,50 c	234,40 b
Milho <i>Bt</i> Cry 1 F sem ácido silícico	0 c	0,00 d	0 d	0 d
Milho <i>Bt</i> Cry 1 F com ácido silícico	0 c	0,00 d	0 d	0 d
CV (%)	34,11	41,73	32,93	20,44

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

As notas atribuídas aos danos devido à alimentação da *S. frugiperda* nos diferentes tratamentos apresentaram efeito significativo após os 14 dias da infestação (Tabela 3).

O tratamento contendo o milho expressando a toxina Cry 1F se mostrou mais eficiente no controle da lagarta-do-cartucho, assim demonstrando que não há necessidade de complemento. O mesmo não foi observado para o evento contendo a proteína Cry 1A(b) que demonstrou ser mais suscetível ao ataque das lagartas. Porém, quando houve a aplicação do ácido silícico no híbrido expressando Cry 1 A(b), a nota de dano foi significativamente menor após os 14 dias da infestação. O mesmo ocorreu para o isogênico não *Bt* após 21 dias da infestação. Isto indica que ao se utilizar uma fonte de silício como complemento forma-se, provavelmente, uma barreira mecânica antialimentar. De acordo com observações de Busato et al. (2002), Goussain et al. (2002) e Neri et al. (2005), lagartas dessa espécie têm a mandíbula desgastada quando alimentadas com milho tratado com uma fonte de ácido silícico.

Tabela 3 – Nota média do dano (\pm ep) causado pela alimentação de *Spodoptera frugiperda* nos diferentes tratamentos.



Tratamentos	Nota 7 dias	Nota 14 dias	Nota 21 dias
Não <i>Bt</i> sem ácido silícico	1,83 a	3,17 a	4,00 a
Não <i>Bt</i> com ácido silícico	1,58 a	2,83 a	2,83 b
Milho <i>Bt</i> Cry 1 A (b) sem ácido silícico	0,91 b	1,58 b	2,25 c
Milho <i>Bt</i> Cry 1 A (b) com ácido silícico	0,75 b	1,16 c	1,33 d
Milho <i>Bt</i> Cry 1 F sem ácido silícico	0,17 c	0,17 d	0,17 e
Milho <i>Bt</i> Cry 1 F com ácido silícico	0,00 c	0,0 d	0,00 e
CV (%)	21,01	16,34	14,64

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Teste de preferência sem chance de escolha em folhas destacadas de plantas de milho

Observou-se diferença significativa entre os tratamentos referente à preferência das lagartas-do-cartucho do milho 24 horas após a liberação (Tabela 4). Dessa forma, pode-se inferir que o ácido silícico confere um efeito “antialimentar”, ou seja, as larvas conseguem detectar a barreira física causada por esse nutriente. Goussain et al. (2002) verificaram efeito significativo do silício na mortalidade da lagarta-do-cartucho ao final do 2º ínstar quando alimentada com folhas provenientes de plantas que receberam esse mineral, apresentando o dobro da mortalidade da testemunha.

Tabela 4 – Número de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em seção foliar de milho nos diferentes tratamentos em teste de livre escolha.

Tratamento	Número de Lagartas
Não <i>Bt</i> sem ácido silícico	5,4 a
Não <i>Bt</i> com ácido silícico	3,6 b
CV (%)	34,45

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Conclusão

A interação silício e milho *Bt* expressando a toxina Cry 1 A(b) e seu isogênico não *Bt* no controle de *S. frugiperda* mostrou-se positiva diminuindo os danos causados pela praga.

A aplicação de silício afetou a preferência de *S. frugiperda* em teste de livre escolha.



Referências

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GILO, F. P.; MARTINS, A. F. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 525-529, 2002.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings National of Academy Science**, Washington, v. 91, n. 1, p. 11-17, Jan. 1994.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; NETO, A. F.; PÍCOLI, R.; BORGATO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B. Efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 25-35, 2003.

FERREIRA, D. F. **Sisvar 5.0**: sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2007.

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

GOUSSAIN, N. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; ROSSI, M. L. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 305-310, abr./jun. 2002.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; FERMINO, T. C.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M.; COSTA, M. C. A.; MARUCCI, R. C.; WAQUIL, J. M. Efeito da interação entre genótipos de milho e evento geneticamente modificado contendo a toxina Cry 1 A(b) nas variáveis biológicas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 10., 2009, Rio Verde. **Anais...** Rio Verde: FESURV, 2009. p. 368-374.

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.; WAQUIL, J. M. **Uso do milho Bt no manejo integrado de lepidópteros-praga**: recomendações de uso. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 170).

NERI, D. K. P.; MORAES, J. C.; GAVINO, M. A. Interação silício com inseticida regulador de crescimento no manejo da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). In: XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010, Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. CD-Rom



Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1167-1174, nov./dez. 2005.

SÁ, G. M. de; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 108-115, 2009.

SARMENTO, R. de A.; AGUIAR, R. W. de S.; AGUIAR, R. de A. S. de S.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, H. G. de; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 18, n. 2, p. 41-48, dez. 2002.

SILVA, D. F. Biocombustíveis e produção animal impulsionarão a cultura. **Agrianual**, São Paulo, p. 373-374, 2004.

SILVA, P. H. S. da. **Avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no milho cultivado com dois níveis de fertilidade**. 1995. 84 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1995.

WAQUIL, J. M.; VILELLA, 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, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

