

Efeito de Diferentes Proteínas *Bt* Expressas em Milho Geneticamente Modificado na Sobrevivência e Biomassa de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850)

Tatiane Aparecida Nascimento Barbosa¹, Christiane Almeida dos Santos², Simone Martins Mendes³, Octávio Gabryel Araújo⁴, Fabrício Carvalho Hebach⁵, Aline Silvia Dias⁶, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro⁷ e Paulo Afonso Viana⁸

^{1,2,4} Ciências Biológicas/UNIFEMM- Sete Lagoas, MG; tatiizoo@hotmail.com; chris.as.p@hotmail.com; octavo_gabriel1991@hotmail.com; ^{3,7,8} Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, simonemendes@cnpmc.embrapa.br; pauloedu@cnpmc.embrapa.br; pviana@cnpmc.embrapa.br; ⁵ Engenharia Agrônômica/UFSJ – Sete Lagoas, MG; fabriciobirom@hotmail.com; ⁶ Engenharia Ambiental/UNIFEMM – Sete Lagoas, MG; alinedias518@gmail.com;

RESUMO - Com o objetivo de avaliar a resposta da lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) aos eventos transgênicos expressando as proteínas Cry1A(b), Cry1F e Vip3A, foram realizados ensaios com milho no estádio R1 (embonecamento), sendo utilizadas as espiguetas dos estilos-estigmas como substrato alimentar das lagartas. As variáveis biológicas avaliadas foram: sobrevivência larval com 48 horas e ao sexto dia e biomassa larval (mg). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Observou-se diferença significativa quanto à sobrevivência de *H. zea* exposta às diferentes proteínas expressas em milhos *Bt*. O tratamento expressando a proteína Vip3A apresentou menor sobrevivência e biomassa larval aos seis dias nula, quando comparado às lagartas mantidas em milho expressando a proteína Cry1F.

Palavras-chave: milho *Bt*, Insecta, milho GM, lagarta-da-espiga, manejo de resistência de insetos

Introdução

A lagarta-da-espiga (LEM) *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie-praga que causa danos à cultura do milho de três formas: atacando os estigmas, impedindo a fertilização e, em consequência, causando falhas de grãos nas espigas; alimentando-se de grãos leitosos, destruindo-os e; finalmente, pelos orifícios deixados pelas lagartas nas espigas, que por ocasião da fase de pupa, facilitam a penetração de microrganismos causadores de podridões (GASSEN, 1996 e BARROS, 2009).

A fêmea desta espécie coloca suas posturas preferencialmente no estilo-estigma (“cabelos”) da espiga. Cada uma deposita em média 1.000 ovos durante sua vida. Os ovos são geralmente depositados individualmente em número de um ou dois por planta. Após 3-4 dias dá-se a eclosão das larvas que começam a se alimentar imediatamente. À medida que se desenvolvem, penetram no interior da espiga e iniciam a destruição dos grãos em formação. A larva completamente desenvolvida mede cerca de 35 mm e apresenta coloração variável de um verde-claro ou rosa para marrom ou quase preta, com partes mais

claras. O período larval varia de 13 a 25 dias, quando as larvas saem da espiga e vão para o solo empupar. O período pupal requer 10 a 15 dias (BARROS, 2009).

O controle de *H. zea* se faz quase que exclusivamente mediante emprego de inseticidas, sendo a eficiência deste método, muito baixa. Isto se deve ao fato das lagartas, encontrarem-se protegidas no interior das espigas. Além disso, provoca um efeito negativo no equilíbrio biológico existente entre o inseto-praga e seus inimigos naturais e o mau uso dos químicos acaba também por forçar a seleção de populações resistentes aos pesticidas (CRUZ, 2002).

Nesse contexto, a utilização do milho *Bt* otimiza o manejo dessa praga por reduzir o uso de inseticidas químicos, com os consequentes benefícios associados: a diminuição de poluição por resíduos tóxicos no ambiente, tanto na água e no solo, quanto em alimentos e matéria prima (MENDES *et al.* 2011).

Considerando a escassez de trabalhos com respostas da lagarta-da-espiga às proteínas *Bts*, a complexidade da expressão dessas proteínas em espigas e a necessidade da definição de estratégias de manejo de resistência dessa praga, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a sobrevivência e a biomassa de *H. zea* em milho expressando três proteínas *Bt*: Cry1A(b), Cry1F, Vip3A.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo de Insetos da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas- MG em janeiro de 2012. Foram utilizados híbridos de milho expressando diferentes proteínas: 1) Cry1A(b), híbrido 30F35YG (MON 810 - Monsanto); Cry 1F híbrido 30F35HX (Herculex - Dow Agrosience) e Vip3A, híbrido Impacto Viptera (Syngenta). Como tratamento controle utilizou-se o 30F35 (Convencional). O estágio do milho utilizado foi o R1, fase caracterizada pelos estilos-estigmas visíveis para fora das espigas (RITCHIE & HANWAY, 1989; MAGALHÃES *et al.*,1994). Foram avaliadas as seguintes variáveis:

a) Sobrevivência larval - foram confinadas cinco lagartas recém-eclodidas por copo de 50 ml com tampa acrílica, provenientes da colônia mantida em laboratório. Para cada tratamento utilizaram-se 24 repetições, totalizando 120 insetos/tratamento. O número de insetos vivos e mortos foi anotado 48 horas após a instalação do experimento e o substrato alimentar foi trocado a cada dois dias. Após 48 horas as lagartas foram individualizadas, para evitar o canibalismo, em no máximo 48 repetições e determinada a sobrevivência larval até o sexto dia.

b) Desenvolvimento e biomassa larval – as avaliações do período de desenvolvimento das lagartas foram realizadas em intervalos de 48 horas. Avaliou-se a sobrevivência e determinou-se a biomassa (mg) das lagartas sobreviventes até o sexto dia de vida em balança de precisão (0,1mg).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

A avaliação da sobrevivência 48 horas após a eclosão, mostrou diferença significativa entre os tratamentos, com maior percentual de sobreviventes para o híbrido 30F35 não *Bt*, diferenciando dos demais tratamentos (milho *Bt*) que apresentaram em média menor sobrevivência (Figura 1). Quanto à sobrevivência avaliada seis dias após a eclosão também houve diferença significativa, no entanto, somente a proteína Vip3A ocasionou menor sobrevivência em relação as demais proteínas (Figura 2).

Também houve diferença significativa para a biomassa de larvas medida aos seis dias após a eclosão, sendo nula para aquelas mantidas alimentado-se de milho expressando a proteína Vip3A e reduzida nas larvas mantidas em milho expressando Cry 1A(b) e Cry1F (Figura 3). Esses dados corroboram com os dados obtidos por Nais (2012) que constatou efeito na redução de danos causados pelas lagartas de *H. zea* em milho expressando as proteínas Cry1F.

Conclusão

- Existe diferença na sobrevivência, desenvolvimento e biomassa larval de *Helicoverpa zea* alimentando-se das proteínas *Bt* expressas em milho GM, sendo que a proteína Vip3A se mostrou mais efetiva para essa espécie do que as demais proteínas estudadas.

- Houve maior efeito da proteína VIP3A em relação as proteínas Cry1A(b) e Cry1F expressas em milho GM na redução da biomassa de *H. zea* avaliada seis dias após a eclosão.

Agradecimentos

A EMBRAPA MILHO E SORGO e FAPEMIG

Literatura Citada

BARROS, R. Pragas do milho. In: Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2008/2009. Maracajú: Fundação MS: Embrapa Soja, 2009. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br/request.php?106>>. Acesso em: 10 maio 2012

CRUZ, I. Resistência de *Spodoptera* a inseticidas. Revista Cultivar, Pelotas, v. 37, p.12-14, 2002.

GASSEN, D. N. Manejo de pragas associadas à cultura do milho. Passo Fundo: Aldeia Norte, p.134, 1996.

MAGALHÃES, P.C.; RESENDE, M.; OLIVEIRA, A. C. de; DURÃES, F.O.M.; SANS, L. M. A. Caracterização morfológica de milho de diferentes ciclos. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20, 1994, Goiânia. Centro Oeste-cinturão do milho e do sorgo no Brasil: resumos. Goiânia, ABMS, 1994. p. 190.

MENDES, S.M. et al. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.46, n.3, p.239-244, 2011.

NAIS, J. Infestação de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.). Tese Doutorado, Jaboticabal, 70p. 2012

RICHIE, S.; HANWAY, J.J. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology/Cooperative Extension Service, p.21 (Special Report n.48), 1989.

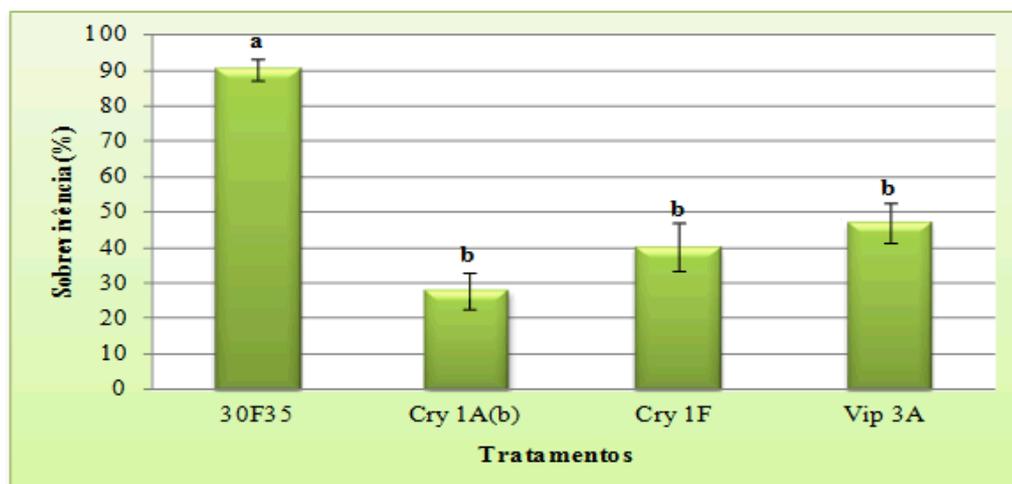


Figura 1. Percentual de Sobrevivência (\pm ep) 48 horas após a eclosão de *Helicoverpa zea* nas diferentes proteínas Bt (Cry 1A(b), Cry 1 F e Vip 3A) e no tratamento controle. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

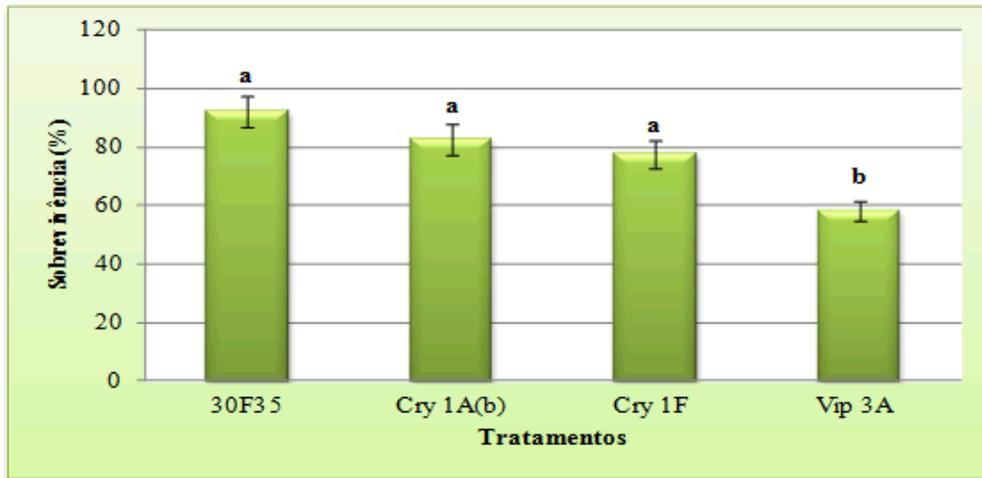


Figura 2. Percentual de Sobrevivência (\pm ep) ao sexto dia de *Helicoverpa zea* ns diferentes proteínas *Bt* (Cry 1A(b), Cry 1 F e Vip 3A) e no tratamento controle. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

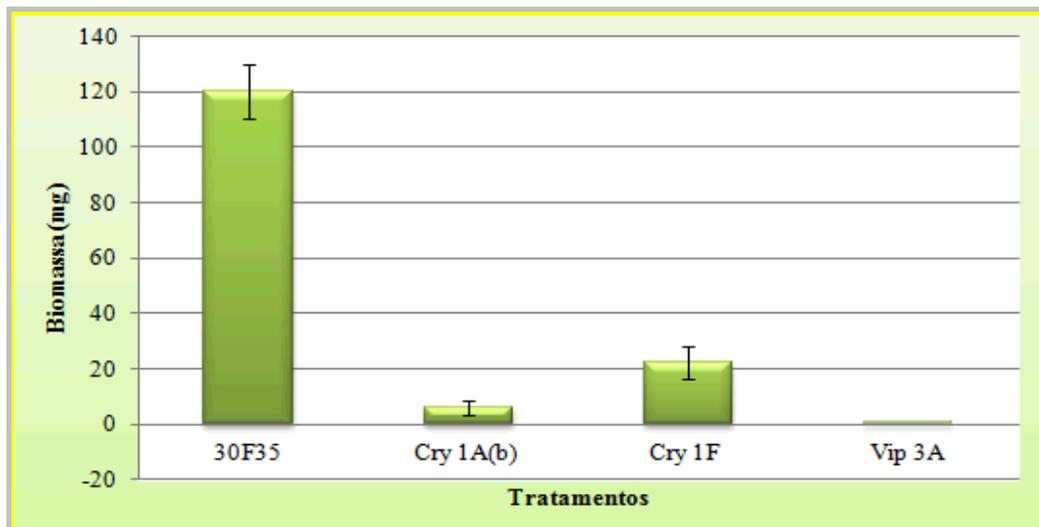


Figura 3. Biomassa média (\pm ep) de *Helicoverpa zea* em diferentes proteínas *Bt* (Cry 1A(b), Cry 1 F) no tratamento controle. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).