

THADEU CARLOS DE SOUZA

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO NÃO-BT A POPULAÇÕES
DE *Spodoptera frugiperda* SUSCEPTÍVEL E RESISTENTE A TOXINAS BT**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

THADEU CARLOS DE SOUZA

**RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE MILHO NÃO-BT A POPULAÇÕES
DE *Spodoptera frugiperda* SUSCEPTÍVEL E RESISTENTE A TOXINAS BT**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Entomologia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2018

Marcelo Coutinho Picanço

Eraldo Rodrigues de Lima

Ricardo Siqueira da Silva

Eliseu José Guedes Pereira
(Orientador)

A Deus pois toda honra e toda glória deve ser dado a ele.
Aos meus pais por todo carinho e amor ao qual eu fui criado.
A minhas irmãs por me apoiar e sonhar todos os meus sonhos.
A todos os meus amigos pelo privilégio de tê-los conhecido.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de conclusão do mestrado neste programa de pós-graduação.

Ao Prof. Eliseu José Guedes Pereira pela orientação durante o mestrado e ao Dr. Oscar Fernando Santos Amaya pela co-orientação e ensinamento durante o período que convivemos.

A todos os meus amigos do Laboratório de Interação Inseto-Planta pela amizade e colaboração durante estes anos de convivência.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq), pela concessão da bolsa de estudos.

À GENEZE S. A. (Paracatu, MG) pelo financiamento e fornecimento de parte dos materiais para condução desta pesquisa.

SUMÁRIO

Resumo.....	v
Abstract	vi
1. Introdução	1
2. Material e Métodos	4
Insetos.....	4
Genótipos de milho e cultivo das plantas	4
Desempenho biológico dos insetos em folhagem de milho	5
Tabela de Vida.....	6
Análise dos dados	7
3. Resultados.....	8
Sobrevivência e histórico de vida nos genótipos de milho	8
Desempenho demográfico	8
4. Discussão	10
5. Conclusão.....	14
6. Referências.....	20

RESUMO

Souza, Thadeu Carlos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Resistência de genótipos de milho não-Bt a populações de *Spodoptera frugiperda* susceptível e resistente a toxinas Bt.** Orientador: Eliseu José Guedes Pereira. Coorientador: Oscar Fernando Santos Amaya.

Em alguns genótipos de milho não-Bt tem-se observado menores infestações de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do que outros genótipos de milho Bt (*Bacillus thuringiensis*). Entretanto não se identificou se esse fato tem ocorrido por serem resistentes a esta praga. Assim o objetivo do trabalho foi determinar se há resistência nesses genótipos a *S. frugiperda*. Dois experimentos de tabela de vida foram realizados em laboratório. No primeiro experimento foi avaliado desempenho biológico da população de *S. frugiperda* suscetível a toxinas Bt em genótipos de milhos. Já o segundo experimento avaliou-se o desempenho biológico da população de *S. frugiperda* resistente às toxinas Bt Cry1A.105+Cry2Ab em genótipos de milho não Bt e eventos que expressavam as toxinas Cry1A.105 e Cry2Ab. No primeiro experimento, o desempenho dos insetos variou nos genótipos de milho testados. A sobrevivência larval foi maior no milho RK3014 e menor em GNZ7280, UFVM100 e GNZ2005, resultando em um menor desempenho biológico dos insetos nos genótipos GNZ7280 e GNZ2005. Já no segundo experimento, a sobrevivência dos insetos da população resistente em dois híbridos de milho Bt GNZ7280PRO2 e RB9110PRO foi menor do que nos híbridos não-Bt (GNZ7280 e GNZ2005), mas os insetos tiveram desempenho biológico semelhante no híbrido com resistência natural (GNZ7280) e seu isohíbrido Bt (GNZ7280PRO2), indicando não haver magnificação da resistência transgênica pela resistência natural presente nas plantas. Em suma, esses resultados indicam que os milhos GNZ7280 e GNZ2005 são promissores como fonte de resistência a *S. frugiperda*, mas a resistência natural presente no híbrido GNZ7280 não reduz o crescimento populacional de insetos resistentes a toxinas Bt Cry1 e Cry2.

ABSTRACT

Souza, Thadeu Carlos de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2018. **Resistance of non-Bt maize genotypes to populations of susceptible and resistant to Bt toxin *Spodoptera frugiperda***. Advisor: Eliseu José Guedes Pereira. Coadvisor: Oscar Fernando Santos Amaya.

In some non-Bt maize genotypes, larger infestations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) than other Bt maize genotypes (*Bacillus thuringiensis*). However, it has not been identified if this fact has occurred because they are resistant to this pest. Two life table experiments were performed in the laboratory. In the first experiment, we evaluated the biological performance of *S. frugiperda* populations susceptible to Bt toxins in corn genotypes. The second experiment evaluated the biological performance of the *S. frugiperda* population resistant to Bt Cry1A.105 + Cry2Ab toxins in non-Bt maize genotypes and events that expressed the toxins Cry1A.105 and Cry2Ab. In the first experiment, insect performance varied in the maize genotypes tested. Larval survival was higher in maize RK3014 and lower in GNZ7280, UFVM100 and GNZ2005, resulting in a lower biological performance of the insects in the genotypes GNZ7280 and GNZ2005. In the second experiment, the survival of insects of the resistant population in two hybrids of Bt maize GNZ7280PRO2 and RB9110PRO was lower than in the non-Bt hybrids (GNZ7280 and GNZ2005), but the insects had similar biological performance in the hybrid with natural resistance (GNZ7280) and its Bt isohybrid (GNZ7280PRO2), indicating that there is no magnification of the transgenic resistance by the natural resistance present in the plants. In summary, these results indicate that maize GNZ7280 and GNZ2005 are promising as a source of resistance to *S. frugiperda*, but the natural resistance present in the hybrid GNZ7280 does not reduce the population growth of insects resistant to toxins Bt Cry1 and Cry2.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma das mais importantes plantas cultivadas. De origem nas Américas, ela está presente em quase todos os continentes do mundo e tem grande importância econômica, cultural e social. Isto se deve ao seu uso alimentar por humanos e por animais domésticos visando principalmente a produção de proteína animal para a alimentação humana. O Brasil é terceiro maior produtor mundial de milho. O mesmo é cultivado em todas as regiões do país, sendo o segundo grão mais cultivado no país, representando 36 % do total da produção de grãos (CONAB 2017). Dentre os fatores responsáveis pela redução de produtividade das lavouras de milho, destaca-se as perdas ocasionadas por ataque de insetos-praga, como a lagarta do cartucho, que pode reduzir a produção em até 34% (Carvalho 1970).

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) conhecida como lagarta do cartucho do milho, é a principal praga da cultura do milho nas regiões tropicais da Américas (Buntin et al. 2004, Hardke et al. 2011), não apenas pelos danos causados, mas principalmente pela dificuldade de controle (Waquil 2007) e da seleção de populações resistentes (Siebert et al., 2008). Atualmente, o principal método usado para o controle desta praga é a utilização de plantas de milho resistentes que expressam toxina(s) Bt (*Bacillus thuringiensis*). A ingestão de tecido foliar dessas plantas pode alterar o desempenho biológico dos indivíduos ou leva-los a morte (Sanahuja et al. 2011). A utilização de plantas resistentes pelos agricultores geralmente é simples e resistência de plantas é compatível com outras táticas de controle de pragas (Wiseman 1994; Wield 2002), que é uma característica importante para a sua utilização em programas de manejo integrado de pragas.

Resistência de plantas a artrópodes normalmente é definida como a “soma das qualidades geneticamente herdadas pela máxima perda de rendimento da planta ocasionada pelo artrópode herbívoro”. Isso resulta da expressão pela planta de características relacionadas que afetam um ou mais aspectos da interação da praga com a planta hospedeira e com outros organismos associados a planta (Painter, 1951, Smith and Clement 2012). A resistência de plantas pode ser dividida em três modalidades: antibiose, antixenose e tolerância. O termo antibiose é usado para descrever os efeitos adversos de plantas sobre a fisiologia/história de vida dos herbívoros. Antixenose, ou não-preferência são as características da planta que alteram o comportamento dos herbívoros de forma a reduzir a preferência ou a aceitação de uma planta como hospedeira. Já a tolerância, refere-se à capacidade de uma planta de suportar dano da praga, de modo que os rendimentos agrônômicos ou a qualidade, sejam reduzidos em menor grau do que em uma planta susceptível submetida a níveis de injúria equivalentes (Painter 1951; Kogman and Ortman 1978; Stout 2013).

Atualmente tem se observado no campo que alguns híbridos de milho não-Bt tem sofrido menor ataque de lagarta do cartucho no campo do que certos híbridos de milho Bt. A principal hipótese deste fenômeno é que esses híbridos não-Bt possuam resistência a esta praga. Tem se verificado que geralmente três compostos estão envolvidos na resistência de genótipos de milho não-Bt a pragas. Estes compostos são o glucosídeo da classe do ácido hidroxixâmico (DIMBOA), derivados do ácido cafeico (Ácido clorogênico) e os glicosídeos flavonoides (Mayzin) presente na raça de milho originária do México, Zapalote Chico (Gueldner et al. 1991). Esses compostos podem reduzir o desempenho (crescimento, sobrevivência e fecundidade) de insetos praga e sendo a causa de resistência de genótipos de milho por antibiose (Stout 2013).

Assim este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a resistência de genótipos de milho não-Bt a *S. frugiperda* em genótipos de milho e testar se seu desempenho biológico é inferior ao associar a possível resistência natural com resistência transgênica. Os resultados desse trabalho são importantes para documentar fontes de resistência à lagarta-do-cartucho-do-milho, visando futuro

desenvolvimento cultivares com maior nível de resistência a esta importante praga na agricultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Insetos

Duas populações de *S. frugiperda* foram usadas nos estudos, sendo uma susceptível e a outra resistente ao milho Bt que expressa as toxinas Cry1A.105+Cry2Ab (i.e., tecnologia PRO). A população susceptível, denominada “Embrapa SS” é oriunda da EMBRAPA Milho e Sorgo. Já a população resistente “Bahia-Bt” é proveniente do oeste da Bahia e possui resistência às toxinas Bt dos milhos Bt PRO (Cry1A.105+Cry2Ab) e Herculex (Cry1F) (Santos-Amaya et al. 2016). As duas populações são mantidas em dieta artificial em condições de laboratório (27 ± 2 °C, umidade relativa $70 \pm 15\%$ e fotoperíodo 14:10 L:D) usando a metodologia de criação de Kaster-junior et al. (1978) com algumas adaptações. Antes da realização dos experimentos ambas populações foram criadas por duas gerações em folhagem de milho. Para a população suscetível foi usado o híbrido de milho não-Bt RB9110. Já para a resistente, o isohíbrido Bt RB9110PRO2 (Riber-KWS, Patos de Minas, MG).

Genótipos de milho e cultivo das plantas

Foram usados nos experimentos oito genótipos de milho, cinco não-transgênicos (GNZ7280, GNZ2005, RK3014, Zapalote Chico e UFVM100) e três transgênicos, sendo dois deles resistentes a lagartas de milho (GNZ7280PRO2 e RB9110PRO) e um tolerante ao herbicida glifosato (GNZRM3700RR2). A variedade de milho (de polinização aberta) UFVM100 foi desenvolvida pela Universidade Federal de Viçosa. Essa variedade foi incluída na pesquisa por haver relatos de ela apresentar historicamente baixa infestação por *S. frugiperda* em relação a híbridos comerciais não-Bt. Os genótipos RK3014 e RB9110PRO são

híbridos comerciais da empresa Riber-KWS Sementes Ltda, sendo para o primeiro também há relatos de ter menor infestação pelo inseto nos campos de produção de sementes. Os demais genótipos testados (GNZ7280, GNZ2005, GNZ7280PRO2, GNZRM3700RR2 e Zapalote Chico) foram fornecidos pela Empresa GENEZE S. A. (Paracatu, MG) com suspeitas de resistência hospedeira à lagarta do cartucho no híbrido GNZ7280.

Em plantio escalonado a cada 15 dias, os genótipos de milho foram cultivados a campo na Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, MG, no período de setembro de 2017 a janeiro de 2018. Os tratos culturais e recomendações técnicas para a cultura foram realizados usando procedimentos padrões para se obter ótimo crescimento vegetativo Cruz (2010). Durante o cultivo não foram aplicados inseticidas. As plantas foram irrigadas duas a três vezes por dia de acordo com a umidade do solo e quando estavam em estágio fenológico V4-V9, folhas do cartucho foram cortadas próximo à bainha, colocadas em balde com água para manter a turgidez, trazidas para o laboratório e seccionadas em fragmentos de 3 cm ao longo da lâmina foliar. O ápice das folhas (10-15 cm) foram descartados por evitar o fornecimento de partes mais siliciosas das folhas às lagartas, que pode afetar o crescimento dos insetos pelo desgaste das mandíbulas.

Desempenho biológico dos insetos em folhagem de milho

Em laboratório foram realizado dois experimentos. No primeiro, avaliou-se desempenho biológico da população de *S. frugiperda* susceptível a toxinas Bt. (Embrapa-SS) ao longo de uma geração nos oito genótipos de milho. Usou-se delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (GNZ7280, GNZ2005, GNZRM3700RR2, GNZ7280PRO2, Zapalote Chico, RK3014, UFVM100, e RB9110PRO) e 16 repetições. Já no segundo experimento, avaliou-se o desempenho biológico da população de *S. frugiperda* resistente a toxinas Bt. (Bahia-Bt) em quatro tratamentos (híbridos de milho GNZ7280, GNZ2005, GNZ7280PRO2, RB9110PRO) com 16 repetições. Cada repetição foi constituída de dois compartimentos (célula) uma bandeja plástica contendo cinco larvas recém eclodidas de *S. frugiperda* e a folhagem de milho

Para ambos experimentos 160 larvas neonatas (< 24 h de eclosão), selecionadas ao acaso, foram acondicionadas em grupo de cinco em duas bandejas de policloreto de vinil (PVC) de 16 células (Advento do Brasil, Diadema, SP), contendo uma seção foliar (3 cm) de folhas do cartucho das plantas de milho entre V4 e V9 conforme descrito anteriormente. As seções foliares foram trocadas diariamente até as lagartas atingirem o estágio de pupa. A partir do 3º dia após a montagem, foi quantificado a sobrevivência dos indivíduos, repetindo o feito a cada dois dias até a emergência dos adultos. Sete dias após a montagem do experimento, os insetos sobreviventes foram pesados e individualizados (1 larva/compartimento) em bandejas descritas anteriormente para evitar canibalismo. O tempo de desenvolvimento larval foi calculado com base no dia da eclosão das lagartas até a pupação, sendo o peso e o sexo das pupas determinado dentro de 24 h de pupação. Além disso, a taxa de emergência dos adultos sua longevidade foram contabilizados para elaboração da tabela de vida conforme descritor a seguir.

Com os insetos remanescentes do grupo inicial de 160 larvas neonatas de cada tratamento, foram formados aleatoriamente 30 casais macho-fêmea virgens. Cada casal foi acondicionado em uma gaiola de PVC (10 cm altura x 10 cm Ø), e mantidos em temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 15\%$ e fotoperíodo 14:10 L:D. Diariamente foram coletados as massas ovos de cada casal até o final do período de oviposição. As massas de ovos foram transferidas para potes de 50 ml contendo um disco de papel toalha umedecido, onde permaneceram por 3 dias até a eclosão, quando diariamente foi contabilizado o número de larvas neonatas por casal.

Tabela de Vida

Os parâmetros relacionadas com o crescimento populacional dos insetos em cada tratamento foram calculados usando as informações geradas nos experimentos anteriores. Tais parâmetros são estimados pela elaboração de tabela de fertilidade e são denominados taxa líquida reprodutiva (produção de fêmeas por fêmeas parental a cada geração, R_0), tempo médio de uma geração (T), e taxa intrínseca de crescimento populacional (produção diária de fêmeas por fêmea parental, r_m). As

estimativas destes parâmetros foram obtidas como descrito por Birch (1948) e Carey (1993) usando algoritmo previamente desenvolvido (Maia et al, 2000) para cálculo no programa SAS (SAS Institute 2011).

Análise dos dados

Com os dados de massa corporal, taxa de sobrevivência e tempo de desenvolvimento foi calculado a taxa de acúmulo de biomassa larval usando a fórmula $ac = \text{sobrevivência (proporção)} \times \text{peso larval (mg)} \div \text{tempo de desenvolvimento (dia)}$. Além desses dados, a taxa sobrevivência imaginal (até pupa), a taxa de viabilidade de pupas e a fertilidade das fêmeas foram analisados usando modelos lineares generalizados PROC GLIMMIX,(SAS Institute 2011) com distribuição gaussiana. O método de Kenward-Roger foi usado para todos os cálculos de graus de liberdade do resíduo e o procedimento da diferença mínima significativa (DMS) de Fisher foi usado para a separação de médias. Dados de sobrevivência ao longo da geração foram submetidos à análise não-paramétrica de Kaplan-Meier usando o teste log-rank para determinar se pelo menos uma das curvas de sobrevivência difere das demais ($P < 0,05$), e em caso positivo, as curvas foram comparadas duas a duas pelo método de Holm-Sidak ($P < 0,05$). As variâncias dos parâmetros da tabela de vida de fertilidade foram estimadas pelo método JackKnife de reamostragem e os tratamentos comparados pelo teste t de Student para duas médias (SAS Institute 2011).

3. RESULTADOS

Sobrevivência e histórico de vida nos genótipos de milho

As curvas de sobrevivência para *S. frugiperda* (da população Embrapa-SS) até a fase adulta diferiu entre os genótipos de milho (Figura 1). Todos os indivíduos dos tratamentos GNZ7280PRO2 e RB9110PRO morreram antes dos sete dias de idade. Fora esses milhos Bt, a sobrevivência dos insetos foi maior nos genótipos RK3014 e menor nos genótipos GNZ7280, UFVM100 e GNZ2005.

Em geral o histórico de vida dos insetos da população suscetível variou entre os genótipos de milho, havendo diferenças em todas as características do ciclo de vida avaliadas (Tabela 1, Figura 2), com valores de *F* variando de 9 a 33 e *P* valores de 0,03 a <0,01 (Tabela 1). No híbrido RK3014 os insetos tiveram curto tempo de desenvolvimento (Figura 2b) e apresentaram as maiores taxas de sobrevivência e de emergência de adultos (Figura 3d-e). Em contraste, no híbrido GNZ2005, os insetos apresentaram menores valores de peso de pupa (Figura 2a), de taxa de crescimento larval (Figura 2c) e de fertilidade (Figura 2f).

As curvas de sobrevivência até adulto da população de *S. frugiperda* resistente a Bt diferiram nos híbridos de milho testados (Figura 4). A sobrevivência dos insetos nos híbridos de milho não-Bt (GNZ7280 e GNZ2005) foi maior do que nos híbridos de milho Bt (GNZ7280PRO2 e RB9110PRO). Entre os milhos Bt ou entre os não-Bt não houve diferença estatística na sobrevivência dos insetos.

Desempenho demográfico

Houve diferença significativa no desempenho biológico dos adultos de *S. frugiperda* (da população Embrapa-SS) nos diferentes genótipos testados (Figura 3). Os insetos criados no genótipo RK3014 se destacaram com os maiores valores

para R_0 e r_m (Figura 3b, c). Esses insetos juntamente com aqueles criados no genótipo UFVM100 apresentaram o menor tempo de geração comparando com os demais (Figura 3a). Embora as estimativas das taxas de crescimento de populacional (R_0 com valores superiores a 1 e de r_m com valores positivos) mostrem o potencial de aumento populacional de *S. frugiperda* em todos os tratamentos, nos genótipos GNZ7280 e GNZ2005 tal rapidez de crescimento ocorre de forma mais lenta, como indicado pelos menores valores de R_0 e r_m apresentado nesses três genótipos.

Para os insetos da população resistentes a Bt (Bahia Bt), o desempenho demográfico também diferiu entre os híbridos de milho testados. Os menores valores de r_m foram observados nos milhos Bt (GNZ7280PRO2 e RB9110PRO) (Figura 5c). Entre esses milhos não houve diferença nos valores de r_m , e R_0 , mas somente no tempo de geração (T) (Figura 5a, b, c). Os valores de R_0 e r_m obtidos no híbrido GNZ7280 foram semelhantes àqueles do seu isohíbrido transgênico Bt (GNZ7280PRO2). O tempo de geração dos insetos foi maior nos híbridos Bt do que nos milhos não-Bt.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo evidenciou-se que os híbridos comerciais de milho GNZ7280 e GNZ2005 apresentam maior nível de resistência à lagarta do cartucho que os demais genótipos testados, sendo que no segundo esse nível foi ainda mais evidente. Nesses cultivares, o potencial de crescimento populacional de *S. frugiperda* foi menor que no genótipo Zapalote Chico, que é uma raça de milho considerada padrão de comparação para resistência hospedeira natural à lagarta do cartucho (Viana and Potenza 2000). Nos últimos anos, poucos estudos de resistência de plantas com genótipos ou espécies de plantas hospedeiras da lagarta do cartucho tem sido realizado (Viana and Potenza 2000, Barros et al. 2010). Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que busca integrar o efeito geral de genótipos comerciais e não-comerciais de milho no potencial de crescimento populacional de *S. frugiperda*.

A taxa intrínseca de crescimento é considerado o parâmetro da tabela de vida mais robusto para mensurar a antibiose de plantas hospedeiras em insetos (Smith 2005). Exceto RK3014, quase todos os genótipos de milho apresentaram certo nível de resistência a *S. frugiperda*, por apresentarem valores de taxa intrínseca de crescimento semelhantes ou inferiores à observada no genótipo Zapalote Chico (Figura 3c). Os insetos criados no milho RK3014 tiveram o melhor desempenho biológico por apresentarem maior taxa reprodutiva líquida e menor tempo de geração, o que leva a um rápido potencial de crescimento populacional (Singh and Parihar 1978) (Figura 3).

Fatores como tempo de desenvolvimento, peso pupa, acúmulo de biomassa, sobrevivência de imaturos e fertilidade também podem ser usados como indicador de desempenho de insetos em diferentes hospedeiros. Os indivíduos que se desenvolveram nos genótipos UFV100, RK3014 e GNZ2005 tiveram peso de pupa e tempo de desenvolvimento larval inferiores ou semelhantes aos observados em

Zapalote Chico (Figura 2a e 2b). Quando se observa o acúmulo de biomassa de lagartas, esses genótipos se destacaram juntamente com o GNZRM3700RR2, apresentando os maiores valores de crescimento larval, contrapondo os menores valores obtidos nos insetos criados Zapalote Chico, GNZ2005 e GNZ7280. Visto que lepidópteros adquirem os nutrientes necessários para se desenvolverem até a fase adulta durante o estágio larval, o menor peso de indivíduos encontrado nesses genótipos indica menor adequabilidade às plantas (Liu et al. 2004). Curiosamente, o menor tempo de desenvolvimento dos insetos nos genótipos mencionados indica que a folhagem dessas plantas fornecem adequadamente os nutrientes necessários para o crescimento (Hwang et al. 2008). É importante ressaltar que o acúmulo de biomassa depende da taxa de ingestão alimentar, digestibilidade do alimento e da eficiência de conversão alimentar em biomassa (Pereira *et al.*, 2002). A presença de aleloquímicos nas folhas pode alterar o comportamento alimentar de forma a reduzir o consumo de área foliar e conseqüentemente pode aumentar o tempo de desenvolvimento. Sabe-se que lipídios presente na cutícula foliar de milho afeta o comportamento alimentar de larvas de *S. frugiperda*, além de inibir seu crescimento (Yang et al. 1991). Além disso, a maior quantidade de hemicelulose presente em alguns genótipos de milho pode reduzir o ganho de peso das larvas (Hedin et al. 1996). Esses fatores podem ser os causadores da redução de peso de pupa e conseqüentemente o menor acúmulo de biomassa dos insetos nos milhos GNZ2005 e GNZ7280.

Além disso, metabólicos secundários da classe dos benzoxazinoides (DIMBOA e DIBOA) correlacionam-se com a resistência de milho a insetos mastigadores generalistas, porém *S. frugiperda* é capaz de converter DIMBOA em DIMBOA-Glc, reduzindo a sua toxicidade (Sasai et al. 2009; Glauser et al. 2011). Sabe-se que a lagarta do cartucho é incapaz de destoxificar HDMBOA-Glc, presente em baixas concentrações em folhas de milho (Gaillard et al. 2017). Maysina é outro aleloquímico presente em altas concentrações em folhas de milho e pode reduzir desempenho do inseto (Wiseman et al. 1992, Nuessly et al. 2007, Gaillard et al. 2017). Assim, a resistência (antibiose) à lagarta do cartucho aqui demonstrada pode também estar relacionada aos efeitos de Maysina e/ou HDIMBOA-Glc, o que pode ser investigado em futuros estudos.

A mortalidade de *S. frugiperda* nos genótipos de milho ocorreu em todos os estádios de desenvolvimento, sendo que a causa disto deva ser as particularidades de cada genótipo. Indivíduos que se desenvolveram no cultivar UFV100 apresentaram juntamente com aqueles criados nos híbridos GNZ2005 GNZ7280 a menor sobrevivência até pupa. Porém ao contrário dos outros, os insetos criados nessas plantas apresentaram a menor taxa de emergência de adultos e fertilidade semelhante à maioria dos genótipos, exceto GNZ2005. Se somente essas variáveis fossem consideradas, poder-se-ia chegar à conclusão de que esse genótipo possui maior nível de resistência dentre os demais. A partir disso pode-se observar a importância de estimar os parâmetros da tabela de vida, que consegue integrar e sumarizar todos esses efeitos ao longo do desenvolvimento do inseto.

Atributos físico-morfológicos e químico-fisiológicos presentes nessas plantas podem afetar a escolha e aceitação desses genótipos pelo inseto fitófago. As plantas desses genótipos promissores podem ser menos preferidos para alimentação e oviposição, o que pode alterar a recomendação de utilização desses genótipos em sistema de manejo integrado de pragas. Estudos para elucidar a presença de antixenose e tolerância das plantas são necessários. Além disso a análise de perfil metabólico e de características estruturais nas folhas de milho é importante para determinar o(s) fator(es) responsável(is) pelo menor desempenho de *S. frugiperda* nos genótipos GNZ2005 e GNZ7280.

A associação de resistência natural com transgenia Bt, não melhorou o efeito da resistência transgênica no desempenho da população de *S. frugiperda* resistente às toxinas Bt da transgenia PRO (Cry1A.105/Cry2Ab). Essa conclusão é substantiada pelos valores da taxa reprodutiva líquida e principalmente da taxa intrínseca de crescimento, as quais foram estatisticamente iguais nos genótipos GNZ7280 e seu isohíbrido Bt. Provavelmente o desempenho similar dessa população nestes dois genótipos está associado ao custo adaptativo da resistência (Gassmann et al. 2009). O efeito do custo adaptativo da resistência a Bt nos insetos deve ter ocorrido de forma mais acentuada do que o efeito da resistência hospedeira das plantas. Para confirmar esse efeito estudos para avaliar a presença de custo e sua magnitude nessa população devem ser realizados.

A facilidade e compatibilidade de uso de cultivares resistentes em sistemas de manejo integrado de pragas, desde que estejam disponíveis, destaca a importância de esforços de pesquisa nesses passos iniciais de identificação de genótipos de milho mais resistentes a *S. frugiperda*. Futuramente, os genótipos promissores podem ser uma importante fonte de resistência visando o desenvolvimento de cultivares resistentes para auxiliar no manejo dessa importante praga do milho. É importante também lembrar dos esforços necessários para o adequado emprego de plantas resistentes, caso contrário pode haver rápida adaptação do inseto-praga aos esses cultivares.

5. CONCLUSÃO

Os híbridos de milho GNZ2005 e GNZ7280 apresentam resistência por antibiose à *Spodoptera frugiperda*. Esses são promissores como fonte de resistência natural *S. frugiperda*, sendo o primeiro o mais promissor. A resistência natural de GNZ7280 não melhora o efeito da resistência transgênica Bt VTPRO no desempenho dos insetos resistentes às toxinas Bt Cry1A.105/Cry2Ab. Além da resistência hospedeira natural aqui demonstrada, deve-se estudar o efeito dos milhos promissores no comportamento de aceitação das plantas do inseto, bem como a tolerância delas ao ataque de *S. frugiperda*.

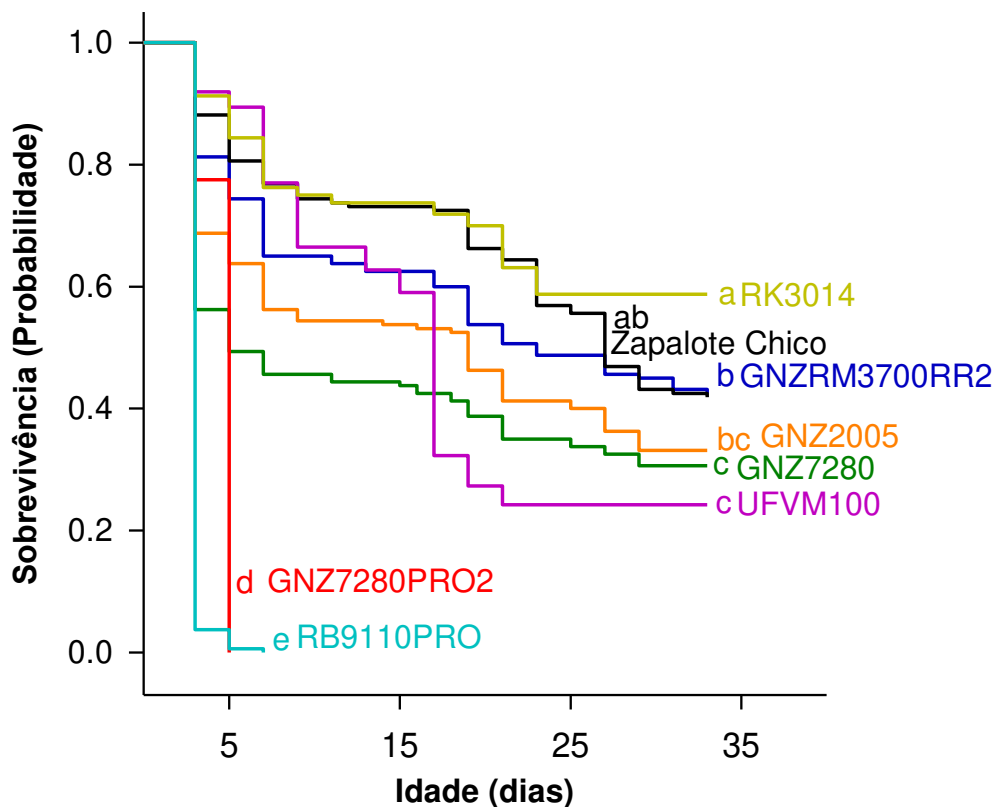


Figura 1. Curvas de sobrevivência da fase imatura (larva e pupa) de *Spodoptera frugiperda* susceptível a toxina Bt. em oito genótipos de milho. O efeito das plantas nos insetos foi mensurado pelo tempo até a morte dos indivíduos. Os genótipos de milho levaram a diferentes curvas de sobrevivência das lagartas ($P < 0,05$). As curvas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Holm-Sidak ($P < 0,05$).

Tabela 1. Resultados da análise de variância mostrando o efeito de seis genótipos de milho em características do histórico de vida de *Spodoptera frugiperda* susceptível a toxina Bt.

Característica	<i>F</i>	GL Num	GL Den	<i>P</i>
Peso de pupas (mg)	13,20	5	89	< 0,01
Tempo de desenvolvimento larval (dia)	32,77	5	89	< 0,01
Acúmulo de biomassa larval (mg/dia)	5,73	5	89	< 0,01
Sobrevivência até pupa (%)	6,21	5	90	0,03
Taxa de emergência de adultos (%)	9,46	5	90	< 0,01
Fertilidade (número de neonatas/fêmea)	2,46	5	155	0,04

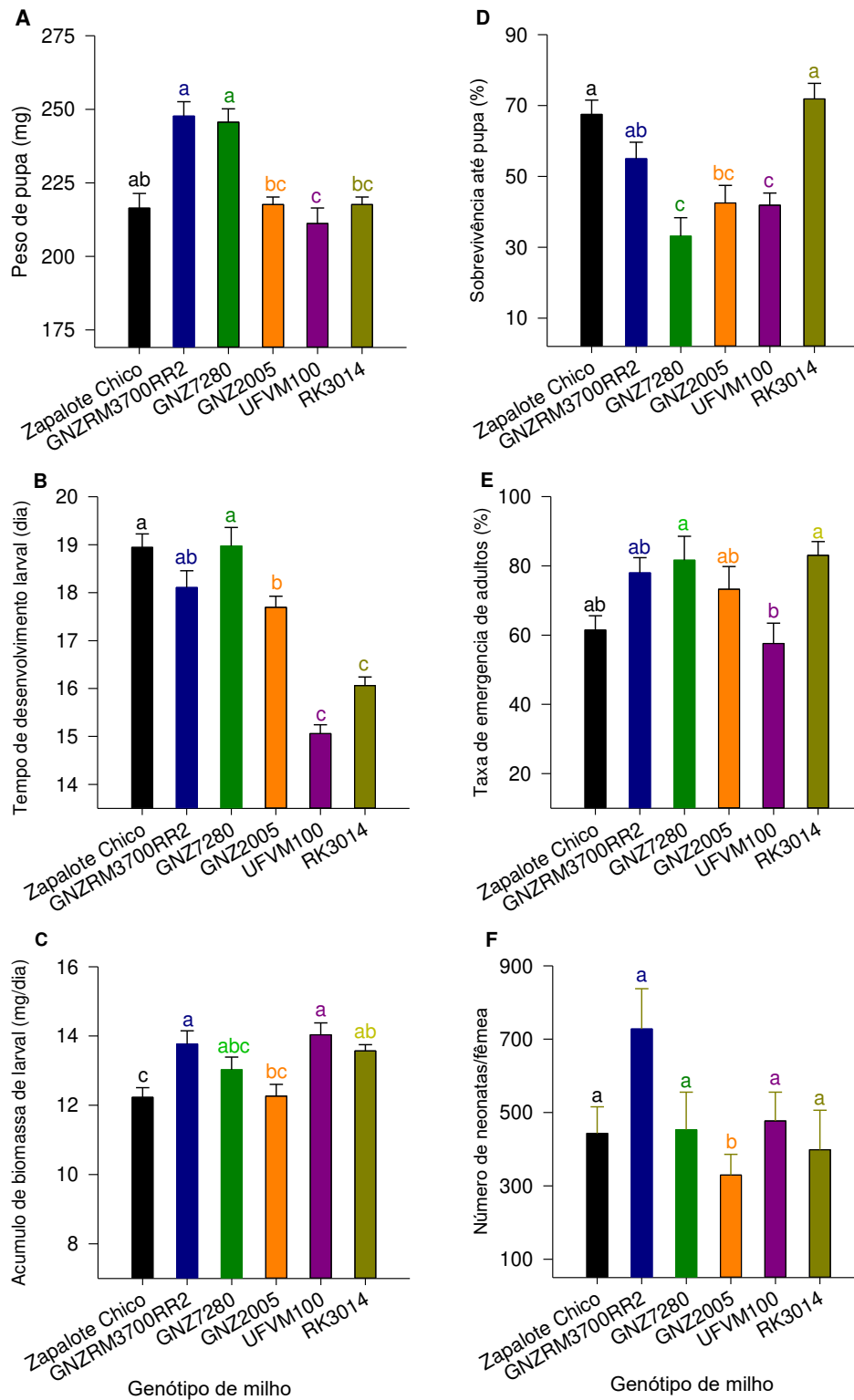


Figura 2. Histórico de vida de indivíduos de *Spodoptera frugiperda* susceptível a toxina Bt. em seis genótipos de milho não-Bt. O efeito dos genótipo de milho nos insetos foi mensurado como: (A) biomassa de pupa, (B) tempo de desenvolvimento de imaturos, (C) acúmulo de biomassa larval, (D) sobrevivência até pupa, (E) emergência total de adultos, e (F) fertilidade total de adultos. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente (teste de Tukey, $P < 0,05$).

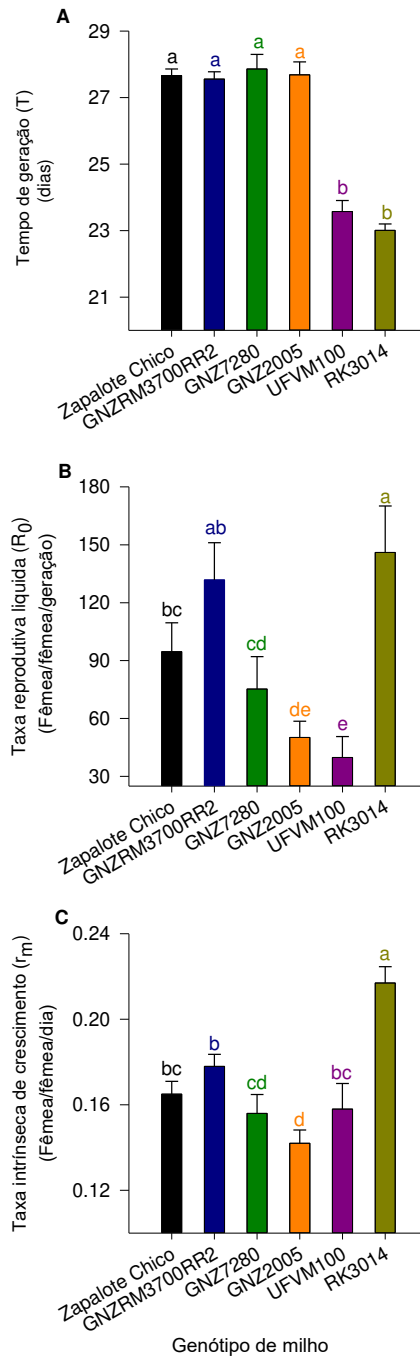


Figura 3. Desempenho biológico de *Spodoptera frugiperda* susceptível a toxina Bt. em seis genótipos de milho estimado por tabela de vida de fertilidade. **(A)** Tempo de geração (T, tempo médio entre o nascimento do indivíduo de uma geração a geração seguinte). **(B)** Taxa reprodutiva líquida (R_0 , número de vezes que a população se multiplica a cada geração), e **(C)** Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m , é a taxa de crescimento diário per capita). Os dados representados são médias \pm erro obtidos pelo método jackknife (Maia et al. 2000). As médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente pelo teste t ($P > 0,05$)

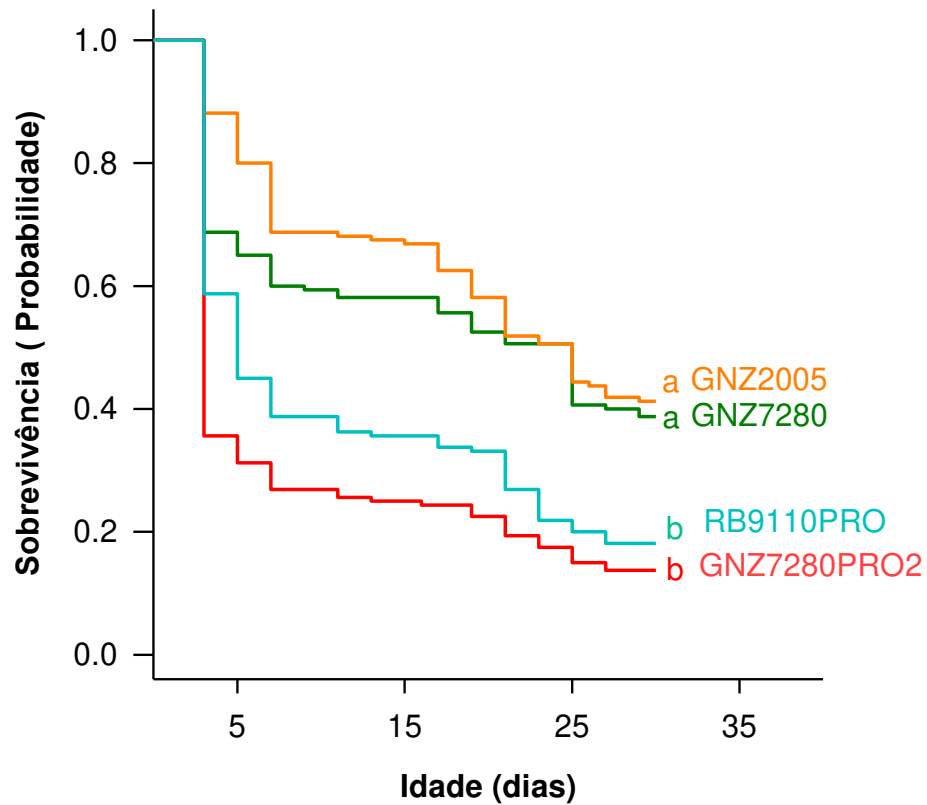


Figura 4. Curvas de sobrevivência da fase imatura (larva e pupa) de *Spodoptera frugiperda* resistente a toxina Bt em quatro genótipos de milho. O efeito das plantas nos insetos foi mensurado pelo tempo até a morte dos indivíduos. Os genótipos de milho levaram a diferentes curvas de sobrevivência das lagartas ($P < 0,05$). As curvas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Holm-Sidak ($P < 0,05$).

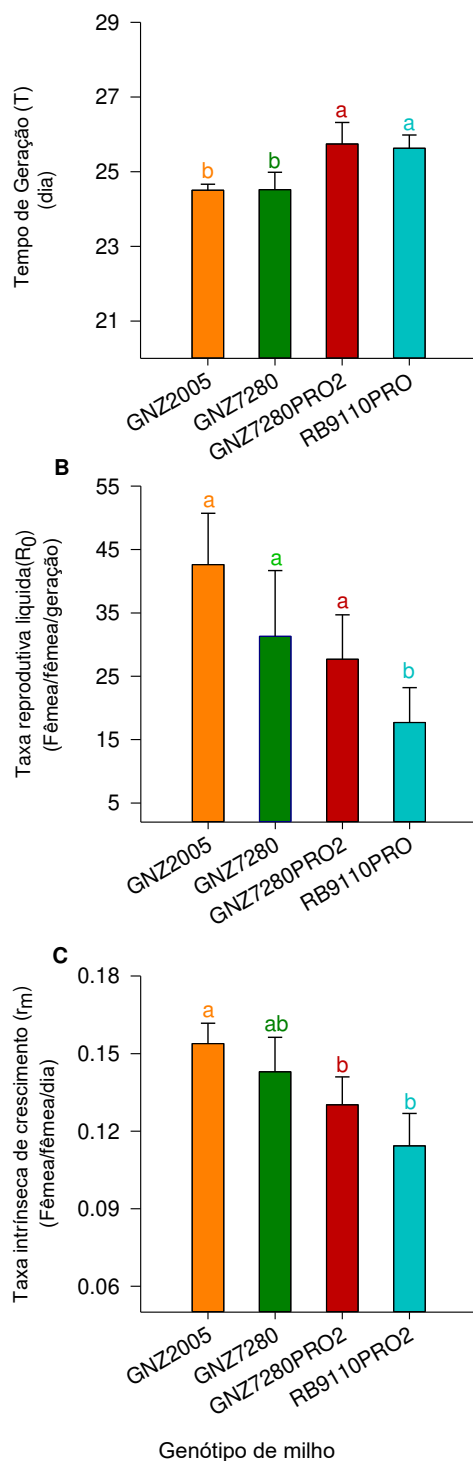


Figura 5. Desempenho biológico de *Spodoptera frugiperda* resistente ao milho Bt que expressa as toxinas Cry1A.105+Cry2Ab em quatro genótipos de milho estimado por tabela de vida de fertilidade (A) Tempo de geração (T, tempo médio entre o nascimento do indivíduo de uma geração a geração seguinte). (B) Taxa reprodutiva líquida (R_0 , número de vezes que a população se multiplica a cada geração), e (C) Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m , é a taxa de crescimento diário per capita). Os dados representados são médias \pm erro padrões obtidos pelo método jackknife (Maia et al. 2000). As médias seguidas pelas mesmas letras não se diferem estatisticamente pelo teste t ($P > 0,05$)

6. REFERÊNCIAS

- Barros, E. M., J. B. Torres, J. R. Ruberson, e M. D. Oliveira. 2010.** Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. *Entomol. Exp. Appl.* 137: 237–245.
- Birch, L. C. 1948.** The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.* 17: 15–26.
- Buntin, G. D., J. N. All, R. D. Lee, D. M. Wilson, G. D. Buntin, J. N. All, e R. D. Lee. 2004.** Plant-incorporated *Bacillus thuringiensis* resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *J. Econ. Entomol.* 97: 1603–1611.
- Carey, J. R. 1993.** Applied demography for biologists with special emphasis on insects, Oxford Uni. ed. Oxford.
- Carvalho RPL. 1970.** Danos, flutuações da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith 1797), e sua suscetibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Tese Doutorado.
- CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. 2017.** Acompanhamento da safra brasileira: café. *Monit. Agric. Safra 2017.* 4: 1–98.
- Cruz, J. C. 2010.** Cultivo do Milho, 6^a. ed. EMBRAPA Milho e sorgo, Sete Lagoas.
- Gaillard, M. D. P., G. Glauser, C. A. M. Robert, e T. C. J. Turlings. 2017.** Fine-tuning the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis: specialist vs generalist herbivores. *New Phytol.* 355–366.
- Gassmann, A. J., Y. Carrière, e B. E. Tabashnik. 2009.** Fitness Costs of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 54: 147–163.
- Glauser, G., G. Marti, N. Villard, G. A. Doyen, J.-L. Wolfender, T. C. J.**

- Turlings, e M. Erb. 2011.** Induction and detoxification of maize 1 , 4-benzoxazin-3-ones by insect herbivores. *Plant J.* 68: 901–911.
- Gueldner, R. C., E. S. Maurice, B. R. Wiseman, N. W. Widstrom, D. S. Himmelsbach, e C. E. Costello. 1991.** Maysin in Corn, Teosinte, and Centipede Grass, American C. ed, *Nat. Occur. Pest Bioregulators.* Washington, D.C.
- Hardke, J. T., B. R. Leonard, F. Huang, e R. E. Jackson. 2011.** Damage and survivorship of fall armyworm (*Lepidoptera : Noctuidae*) on transgenic fi eld corn expressing *Bacillus thuringiensis* Cry proteins q. *Crop Prot.* 30: 168–172.
- Hedin, P. A., F. M. Davis, W. P. Williams, R. P. Hicks, e T. H. Fisher. 1996.** Hemicellulose is an important leaf-feeding resistance factor in corn to the fall armyworm. *J. Chem. Ecol.* 22: 1655–1668.
- Hwang, S., C. Liu, e T. Shen. 2008.** Effects of plant nutrient availability and host plant species on the performance of two *Pieris* butterflies (*Lepidoptera : Pieridae*). 36: 505–513.
- Kaster-junior, P., A. A. C. M. Precetti, e J. R. P. Parra. 1978.** Dados biológicos comparativos de *Spódoptera frugiperda* (j.E. Smith,1797) em duas dietas artificiais e substrato. *Rev. Agric.* 53: 68–78.
- Kogman, M. ; Ortman, E. 1978.** Antixenosis-A term proposed to define Painter’s “Nonpreference” modality of resistance., 24,. *ESA Bull.* 175–176.
- Liu, Z., D. Li, P. Gong, K. Wu, Z. Liu, D. Li, P. Gong, e K. Wu. 2004.** Life Table Studies of the Cotton Bollworm , *Helicoverpa armigera* (*Hübner*) (*Lepidoptera : Noctuidae*), on Different Host Plants. *Environ. Entomol.* 33: 1570–1576.
- Maia, A. D. H. N., A. J. B. Luiz, e C. Campanhola. 2000.** Statistical inference on associated fertility life parameters using jackknife technique: computational aspects statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. *J. Econ. Entomol.* 93: 511–518.
- Nuessly, G. S., B. T. Scully, M. G. Hentz, R. Beiriger, M. E. Snook, e N. W. Widstrom. 2007.** Resistance to *Spodoptera frugiperda* (*Lepidoptera :*

Noctuidae) and *Euxesta stigmatias* (Diptera : Ulidiidae) in Sweet Corn Derived from Exogenous and Endogenous Genetic Systems. *J. Econ. Entomol.* 100: 1887–1895.

Painter R H. 1951. *Insect Resistance in Crop Plants*, Macmillan. New York.

Pereira, L. G. B., F. Petacci, J. B. Fernandes, A. G. Corrêa, P. C. Vieira, M. F. G. da Silva, e O. Malaspina. 2002. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatilis* and *Spodoptera frugiperda*. *Pest Manag. Sci.* 507: 503–507.

Sanahuja, G., R. Banakar, R. M. Twyman, T. Capell, e P. Christou. 2011. *Bacillus thuringiensis*: A century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnol. J.* 9: 283–300.

Santos-Amaya, O. F., J. V. C. Rodrigues, T. C. Souza, C. S. Tavares, S. O. Campos, R. N. C. Guedes, e E. J. G. Pereira. 2016. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. *Sci. Rep.* 5: 18243.

SAS Institute. 2011. *SAS user's manual*,. SAS Institute, Cary NC. Version 9.

Sasai H, Ishida M, Murakami K, Tadokoro N, Ishihara A, Nishida R, M. N. 2009. Species-specific glucosylation of DIMBOA in larvae of the rice armyworm. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 1333–1338.

Siebert, M.; Babock, J. M.; Nolting, S.; Santos, A. C.; Adamczyk, J. J.; Neese, P. A.; King, J. E.; Jenkins, J. N.; McCarty, J.; Lorenz, G. M. . F. D. D. ., e R. B. Lassiter. 2008. Efficacy of Cry1Fa insecticidal protein in maize and cotton for control of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 91: 555–565,.

Singh, P. M., e S. B. . Parihar. 1978. Effect of different hosts on development of *Heliothis armigera* Hub. *Bull Entomol.* 29: 168–172.

Smith, C.M., Clement, S.L. 2012. Molecular bases of plant resistance to arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 309–328.

Smith, M. C. 2005. Plant resistance to arthropods: Molecular and Conventional

Approaches, 1º ed.

- Stout, M. J. 2013.** Reevaluating the conceptual framework for applied research on host-plant resistance. *Insect Sci.* 20: 263–272.
- Viana, P. A., e M. R. Potenza. 2000.** Avaliacao de antibiose e nao-preferencia em cultivares de milho selecionados com resistencia a lagarta-do-cartucho. *Bragantia.* 59: 27–33.
- Waquil J.M. 2007.** Manejo fitossanitário e ambiental: milho transgênico Bt e resistência das plantas ao ataque da lagarta-do-cartucho.
- Wield G. 2002.** Arthropod host plant resistant crops. In: Pimentel, D. (Ed. *Encycl. Pest Manag.*
- Wiseman, B. R., M. E. Snook, D. J. Isenhour, J. A. Mihm, e N. W. Widstrom. 1992.** Relationship between growth of corn- earworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera, Noctuidae) and maysin concentration in corn silks. *J. Econ. Entomol.* 85: 2473–2477.
- Wiseman B R. 1994.** Plant resistance to insects i integrated past manegement. *Plant Dis.* 78: 927–932.
- Yang, G., D. J. Isenhour, e K. E. Espelle. 1991.** Activity of Maize Leaf Cuticular Lipids in Resistance to Leaf-Feeding by the Fall Armyworm. *Florida Entomol.* 74: 229–236.