



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS  
COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM TERRAS  
ALTAS DO BRASIL CENTRAL**

**LEANDRO NOGUEIRA RAMOS**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF  
NOVEMBRO/2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS**  
**COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM TERRAS**  
**ALTAS DO BRASIL CENTRAL**

**LEANDRO NOGUEIRA RAMOS**

Matrícula: 14/0092871

**ORIENTADORA: NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**PUBLICAÇÃO: 069D/2018**

**BRASÍLIA/DF**  
**NOVEMBRO/2018**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS**  
**COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM**  
**TERRAS ALTAS DO BRASIL CENTRAL**

**LEANDRO NOGUEIRA RAMOS**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.**

**APROVADA POR:**

---

**Nara Oliveira Silva Souza, Dra. (Universidade de Brasília).**  
**(Orientadora) e-mail: narasouza@unb.br**

---

**Reinaldo José Miranda Filho, Dr. (Universidade de Brasília).**  
**(Examinador Externo) e-mail: rjmiranda@unb.br**

---

**Michelle Souza Vilela, Dra. (Universidade de Brasília).**  
**(Examinadora Interna) e-mail: : michellevilelaunb@gmail.com**

---

**Ana Cristina Miranda Brasileiro, Dra. (Embrapa Rec. Genéticos e Biotecnologia).**  
**(Examinadora Externa) e-mail: ana.brasileiro@embrapa.br**

---

**Marcelo Fagioli, Dr. (Universidade de Brasília).**  
**(Examinador Interno Suplente) e-mail: mfagioli@unb.br**

**BRASÍLIA/DF, 29 de novembro de 2018.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

RAMOS, Leandro N.

“HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM TERRAS ALTAS DO BRASIL CENTRAL”.

Orientação: Nara Oliveira Silva Souza, Brasília 2018. 98 páginas.

Tese de Doutorado – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2018.

1. Resistência genética, *Spodoptera frugiperda*, *Zea mays*, versões transgênicas, desempenho em rendimento.

I. Souza, N.O.S. II. Dra

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

RAMOS, L.N. **Híbridos de milho geneticamente modificados comparados a híbridos de milho convencional em terras altas do Brasil Central.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 98 páginas. Tese.

## CESSÃO DE DIREITOS:

NOME DO AUTOR: LEANDRO NOGUEIRA RAMOS

TÍTULO DA TESE: “HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM TERRAS ALTAS DO BRASIL CENTRAL”

GRAU: DOUTOR ANO: 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Leandro Nogueira Ramos

CPF: 002700151-24

Endereço: SQN 211, Bloco “D”, APTO 402, CEP 70860-040, Asa Norte, Brasília – DF

Tel.: 61 – 2106-1066 E-mail: [zleandro.ramos@gmail.com](mailto:zleandro.ramos@gmail.com) e/ou [leandro.ramos@pioneer.com](mailto:leandro.ramos@pioneer.com)

Dedico à minha esposa Keize Pereira Junqueira, à minha  
filha Lara Junqueira Ramos, aos meus pais e aos meus  
irmãos.

## AGRADECIMENTOS

À minha esposa Keize, companheira de todos os dias, que me apoia incondicionalmente, por entender a importância deste trabalho para minha vida e me incentivar a dar o meu melhor sempre.

Aos meus pais Luiz e Maria Clara, por sempre estarem ao meu lado, me apoiarem e me incentivarem.

Aos meus irmãos Luiz Filho e Lívia pelo carinho e amizade.

A DuPont Pioneer e aos meus colegas e amigos Carlos Raupp, Maurício Kobiraki, Eder Mantovani e Matheus Reis pela oportunidade e incentivo.

À Dra. Nara Oliveira Silva Souza pela orientação.

Aos membros da banca pela disponibilidade, cooperação e auxílio no processo de melhoria desse trabalho.

Aos colegas da Pesquisa Milho da DuPont Pioneer/Brasília que auxiliaram e contribuíram na condução dos experimentos.

# HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS EM TERRAS ALTAS DO BRASIL CENTRAL

## RESUMO GERAL

O milho (*Zea mays* L. Poaceae) é atualmente a cultura que ocupa o segundo lugar no Brasil em área plantada. Nas últimas décadas, os produtores de várias regiões do país tem cultivado milho também como segunda safra, principalmente após a colheita da soja (*Glycine max* L. Fabaceae). No ano de 2010, a área de milho cultivada como segunda safra, ultrapassou a área cultivada de milho tradicionalmente cultivada no verão. Portanto, a cultura do milho é cultivada no Brasil nos doze meses do ano, tanto na safra de verão, quanto na segunda safra e também durante os períodos de entressafra em áreas irrigadas. Conseqüentemente, os problemas de queda de rendimento de grãos devido ao ataque de doenças e insetos-praga aumentaram drasticamente. Dentre estas pragas, destaca-se a lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) que é o principal problema biótico da cultura. A fase larval do inseto, que pode dizimar as lavouras de milho se não houver o controle adequado. Ocorre principalmente na fase vegetativa e posteriormente aloja-se no cartucho da planta, onde o controle químico é dificultado pelo acesso do ingrediente ativo. A praga é polífaga e tem alto poder de dispersão, o que dificulta o controle. Nas últimas décadas, plantas transgênicas que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) vêm sendo amplamente utilizadas para o controle genético de pragas, preventivamente no Brasil e no mundo. Após o ano de 2007, com a liberação comercial do primeiro evento Bt com resistência a lagarta no Brasil, a adoção desta tecnologia ocorreu em massa, sendo que, na safra 2017/2018, mais de 85% das áreas de milho foram cultivadas com híbridos Bt. Neste período houve diversos lançamentos de híbridos transgênicos Bt, tanto com um evento expressando apenas uma proteína Bt, quanto evento piramidados, contendo dois, três, quatro e até cinco eventos Bt em um mesmo híbrido de milho. Este processo dinâmico, de lançamentos de novos eventos transgênicos que expressam proteínas Bt se faz necessário pelo dinamismo da eficácia destas tecnologias. Neste contexto, muitos pesquisadores têm estudado tanto a eficácia destes eventos novos a ser lançado no mercado, quanto o manejo de resistência dos eventos que estão no mercado. A evolução da resistência é um dos maiores entraves na manutenção da eficácia de um evento por um período prolongado. Assim, os objetivos deste trabalho foram quantificar o rendimento em produção de grãos de híbridos de milho transgênicos, e seus correspondentes convencionais a fim de comparar seus respectivos potenciais produtivos, em análise conjunta de experimentos conduzidos na região Centro-Oeste do Brasil, bem como quantificar os parâmetros determinadores diretos de produtividade e as características morfoagronômicas entre estas plataformas híbridas de milho.

**Palavras-chave:** Resistência genética, *Spodoptera frugiperda*, versões transgênicas, desempenho em rendimento, *Zea mays*, produção de grãos.

# COMPARISON BETWEEN GENETICALLY MODIFIED MAIZE HYBRIDS AND CONVENTIONAL MAIZE HYBRIDS IN HIGH LANDS OF CENTRAL BRAZIL.

## ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L. Poaceae) is currently the crop that occupies the second place in Brazil in planted area. In the last few decades, farmers in several regions of the country have also grown maize as a second crop, especially after harvesting soybeans (*Glicine max* L. Fabaceae). This fact covered the cultivation of maize in Brazil, in the year 2010 the area of maize grown as a second crop exceeded the cultivated area of corn traditionally grown in the summer. Therefore, maize is grown in Brazil during the twelve months of the year, both in the summer and in the second harvest, and during the inter-harvest periods in irrigated areas. Consequently, problems of grain yield loss due to disease attack and insect pests have increased dramatically. Among these pests, the maize weevil, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), is the main biotic problem of culture. The larval phase of the insect can decimate corn crops if there is not adequate control, mainly occurs in the vegetative phase and later is housed in the cartridge of the plant, where chemical control is hampered by the access of the active ingredient. The pest is polyphagous and has high scattering power which makes control difficult. In recent decades, transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxins have been widely used for genetic control, preventively in Brazil and worldwide. After 2007 with the commercial release of the first Bt event with resistance to caterpillar in Brazil, the adoption of this technology occurred in mass, and in the 2017/2018 crop more than 85% of the corn areas were cultivated with Bt hybrids. In this period, there were several launches of Bt transgenic hybrids, both with an event expressing only one Bt protein, and pyramidal events, containing two, three, four or five Bt events in the same corn hybrid. This dynamic process, with the release of transgenic events expressing Bt proteins, is necessary due to the dynamism of the efficacy of these technologies. In this context, many researchers have studied both the efficacy of these new events to be launched in the market and the handling of resistance of the events that are in the market. The evolution of resistance is one of the major obstacles to maintaining the effectiveness of an event for an extended period. The objective of this work was to quantify the production yield of transgenic maize hybrids, and their conventional counterparts to compare their respective production potential, in a joint analysis of experiments conducted in the Central-West region of Brazil, as well as to quantify the direct determinants of productivity and the morphoagronomic characteristics between these hybrid corn platforms.

**Keywords:** Genetic resistance, *Spodoptera frugiperda*, transgenic versions, yield performance, *Zea mays*, grain production.



## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Ciclo médio de vida da lagarta-do-cartucho, <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	25
--	----

### CAPÍTULO 1 - DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS NO BRASIL.

Figura 1. Média de produtividade de híbridos de milho convencionais, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) em relação ao desempenho de produtividade obtidos pela Melhor Predição Linear não Viesada ( $\mu$ -BLUP) analisados pelo programa estatístico ASReml. Brasília-DF, 2015.....	62
---	----

## LISTA DE TABELA

### **CAPÍTULO 1 - DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS NO BRASIL**

Tabela 1. Dados de localizações geográficas, altitude em nível do mar, datas de plantio e datas de colheita do experimento de milho. Brasília-DF, 2015. ....57

Tabela 2. Classificação de híbridos de milho convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) em relação ao desempenho de produtividade de grãos obtidos pelo  $\mu$ , Melhor Predição Linear. Brasília-DF, 2015. ....59

Tabela 3. Classificação dos híbridos de milho em relação ao desempenho de produtividade obtidos pela média dos  $\mu$  (BLUPs) entre as versões convencional, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) analisados ..... 60

Tabela 4. Diferenças percentuais de desempenho em rendimento de cinco híbridos de milho obtidas pela predição de  $\mu$  (BLUPs) entre as versões convencional, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) an .....63

### **CAPÍTULO 2 - PARÂMETROS AGRÔNOMICOS E CARACTERÍSTICAS MORFOAGRONÔMICAS DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS.**

Tabela 1. Médias dos valores de produtividade de grãos de milho (PD) de 15 híbridos de milho convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016. ....85

Tabela 2. Média dos valores de produtividade de milho, profundidade de grãos (PG), peso de mil grãos (P1000), número de fileiras de grãos (NF), número de grãos por fileira (NG) e produtividade de grãos (PD) de cinco plataformas de híridos de milho e três versões em cada plataforma, convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016.....86

Tabela 3. Média dos valores de características morfológicas que influenciam o acamamento e quebramento de plantas de milho, altura de plantas (AP), altura de inserção de espiga (AE) e diâmetro médio de colmo (DC), de cinco plataformas de híridos de milho e três versões em cada plataforma, convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016.....91

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELA .....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1. Objetivo geral .....	18
2.2. Objetivos específicos.....	18
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>19</b>
3.1. Cultura do Milho .....	19
3.2. Biologia de <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	23
3.3. Adoção de milho Bt no Brasil .....	26
3.4. Método de retrocruzamento na introdução de transgenes .....	29
3.6. Dinâmica de eficácia de toxinas Bt resistentes a <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	33
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO 1. DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS NO BRASIL.....</b>	
<b>RESUMO .....</b>	<b>49</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>50</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>56</b>
2.1. Materiais vegetais.....	56
2.2. Tratamentos .....	56

2.3. Condução do experimento .....	56
2.4. Delineamento Experimental .....	57
2.5. Características mensuradas.....	58
2.6. Análise estatística .....	58
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
3.1. Rendimento de grãos .....	59
3.2. Rendimento de grãos entre híbridos transgênicos e não transgênicos .....	60
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>66</b>
 <b>CAPÍTULO 2. PARÂMETROS AGRÔNOMICOS E CARACTERÍSTICAS</b>	
<b>MORFOAGRONÔMICAS DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE</b>	
<b>MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO</b>	
<b>CONVENCIONAIS.....</b>	
	<b>69</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>70</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>71</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>75</b>
2.1. Material vegetal.....	76
2.2. Tratamentos .....	77
2.3. Descrição da área experimental.....	78
2.4. Delineamento experimental.....	79
2.5. Características morfoagronômicas mensuradas .....	80
2.6. Análises estatísticas .....	81
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>83</b>
3.1. Rendimento de grãos .....	84
3.2. Parâmetros agrônômicos determinadores de produtividade.....	85
3.3. Características morfológicas .....	89

<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>92</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>98</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as culturas mais importantes do Brasil, o milho (*Zea mays* L. Poaceae) é cultivado em todos os estados do país, devido às características edafoclimáticas do Brasil serem muito favoráveis para a cultura e a possibilidade de se produzir em ambientes contrastantes. O milho é uma cultura de grande e diversificada utilização na sociedade moderna e um dos produtos agrícolas de ampla distribuição mundial, tanto em produção quanto em consumo, além de ser cultivado nos doze meses do ano.

Nas últimas décadas, em meados dos anos 2000, o cenário da cultura do milho no Brasil migrou da tradicional época de plantio de verão para ser também cultivado na segunda safra como uma excelente opção. Tal prática era citada anteriormente como “safrinha”, por ocupar uma área geográfica pequena e as expectativas de colheita não serem muito ambiciosas. Contudo, o cenário inverteu e a segunda safra de milho para vários estados como o Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Tocantins passou a ter tanto ou mais importância quanto à primeira safra. Assim, intensificou a necessidade de híbridos de ciclo precoce, alto potencial produtivo, ser responsivo a alta tecnologia e tolerantes às principais doenças.

Atualmente, a área de milho plantada na segunda safra no Brasil é maior que a área cultivada na primeira. Outro fator importante na cultura do milho é a adaptação dos produtores de soja, cultura que abrange maior área no Brasil, aprimorar-se em cultivar milho em sucessão à soja e, ao mesmo tempo, optar por ganhos genéticos expressivos para híbridos utilizados nestas regiões.

A amplitude de área e diversidade de épocas de plantio de milho favorece a infecção e desenvolvimento de fitopatógenos, elevando a taxa de fonte de inóculo, bem como de populações de insetos-praga no campo. Os principais artrópodes-praga que podem dizimar uma cultura de milho são a lagarta elasm, *Elasmopalpus lignosellus*

Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), a larva-alfinete, *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae), a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) e, principalmente, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (FORESTI et al., 2018).

Existem algumas opções no mercado de eventos transgênicos de milho que conferem resistência genética a insetos, que impulsionaram os patamares de produtividade e facilitaram o manejo da cultura, tanto para o controle de insetos quanto de plantas daninhas. Em outros países, plantas transgênicas que expressam proteínas inseticidas isolados da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) são utilizadas desde a década de 90 para o controle de insetos-praga em diversas culturas. No Brasil, para a cultura do milho, o primeiro evento transgênico liberado comercialmente pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) ocorreu em 2007 e, a partir daí, diferentes eventos foram aprovados, bem como combinações de dois ou mais eventos. Inúmeros benefícios podem ser mencionados com a adoção destas tecnologias, como o controle genético prévio e eficiente das pragas-alvo e maior retorno econômico. Com a redução de utilização de controle químico com inseticidas, houve também uma redução da poluição de mananciais hídricos, dos solos e diminuição da absorção de princípios ativos químicos por animais silvestres e preservação de inimigos naturais.

Com o advento da biotecnologia e a adoção de marcadores moleculares, é cada vez mais comum nos programas de melhoramento genético de plantas. Para os estudos relacionados à entomologia voltada à obtenção, validação e liberação comercial de novos eventos transgênicos também se tornaram rotina. Além do emprego destas tecnologias, para lançamento de novos eventos eficazes e eficientes, é investido muitos recursos financeiros nos programas de melhoramento genético de plantas. Após as desregulações de eventos transgênicos e liberações comerciais, a utilização de



ferramentas moleculares é utilizada rotineiramente para conversão de linhagens de milho convencionais em transgênicas. Desta forma, é muito importante delinear metodologias de conversões destas linhagens por meio de cruzamentos e retrocruzamentos assistidos com marcadores moleculares para maximizar a eficiência e rapidez do processo. Tais conversões não podem ocasionar mudanças nas características agronômicas da planta, ou seja, que não interfiram no ciclo, perfil de resistência a doenças e potencial de rendimento de cada versão transgênica ao comparar-se com a versão convencional.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Detectar o desempenho morfoagronômico de híbridos de milho geneticamente modificados com híbridos de milho convencionais no Brasil Central.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Analisar a interferência de eventos transgênicos na produção de grãos;
- Determinar os parâmetros fenotípicos que influenciam o rendimento da produção de grãos;
- Quantificar o incremento ou redução de produtividade devido à inserção de evento transgênico único ou duplo.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Cultura do Milho

O milho é o cereal mais cultivado no mundo segundo (USDA, 2017) sendo que em 2016 as exportações representaram mais de 86 bilhões de dólares. Em 2016, o maior comprador da *commoditie* foi o continente asiático com mais de 37 bilhões de dólares, sendo aproximadamente 20,8 bilhões a China, o país mais populoso do mundo, a União Europeia 16,7 bilhões e os EUA que importaram 6,3 bilhões (DEAGRO, 2016). No Brasil, o agronegócio é um pilar da economia e interfere diretamente no Produto Interno Bruto (PIB) e determina grande parte da balança comercial brasileira (DE SOUZA et al., 2017).

Em 2016, a produção mundial do grão foi de quase 1 bilhão de toneladas. No Brasil, o cultivo do milho é um dos principais segmentos econômicos do agronegócio brasileiro, sendo o segundo grão mais exportado, atrás apenas da soja. Os EUA foi o país maior produtor de milho do mundo com 345 milhões de toneladas, seguido pela China com 224 milhões e o Brasil com 67 milhões de toneladas (USDA, 2017). Apesar dos EUA ser o maior produtor de milho do mundo, o Brasil, tem um importante papel no cenário mundial como fornecedor de proteína para ração animal. Os EUA tem destinado grande parte da sua colheita para produção de etanol e as refinarias norte-americanas vêm investindo na produção de etanol oriundo de milho.

A produção brasileira também é favorecida no mercado mundial por fornecer milho em diferentes épocas do ano, tanto nas colheitas oriundas de plantios de verão quanto nas colheitas oriundas do cultivo de segunda safra (safrinha). Em ambas as épocas, ano após ano o teto produtivo e as médias de produtividade de grãos vêm aumentando. A expansão de áreas plantadas de milho permitiu que o Brasil ocupasse uma maior

participação no mercado internacional (CONAB, 2017) que nos últimos anos estão com estoques baixos.

No cultivo de milho no Brasil de primeira safra (verão), os plantios ocorrem normalmente de agosto a dezembro e as colheitas entre março e junho, ocupando aproximadamente 40% da área total de milho. Na segunda safra (safrinha), os plantios ocorrem normalmente de janeiro a março e as colheitas entre os meses de junho e setembro, com aproximadamente 60% da área total de milho (DEPEC, 2017). Este cenário de inversão de tamanho de área geográfica entre primeira e segunda safra, ocorreu no ano de 2016 e os principais motivos para isto foram o aumento de área de cultivo de soja na região centro-norte (REIS et al., 2016), e crescente lançamentos de híbridos de milho adaptados e com elevado potencial produtivo indicados para segunda safra, geralmente em sucessão à soja (GAVA et al., 2018).

O melhoramento genético tem contribuído para incremento significativo dos patamares de produtividade no Brasil. As novas tecnologias de cultivo, como adensamento de plantas, eficiência e padronização de aplicação de adubação mineral, melhoria na qualidade de sementes e controle químico de pragas (insetos e doenças), estão associadas a cultivares de alto potencial genético (híbridos simples e triplos) além da utilização de tecnologias transgênicas (EMBRAPA, 2017).

A produção nacional do milho está presente em todos os estados do país. As regiões Sul, Centro-Oeste e Sudeste se destacam pela concentração de cultivo de milho. Até os anos 90, a produção agrícola nacional era concentrada na região Sul do Brasil, devido a boa qualidade dos solos e das condições climáticas favoráveis para o cultivo de milho naquela época. Conseqüentemente as fazendas destas regiões se valorizaram e aumentaram a capacidade produtiva pelas correções dos solos e adubações minerais.

O aumento de demanda pelo grão produzido no Brasil e a disponibilidade de terras com valores inferiores às da região Sul do Brasil, propiciaram a ampliação da produção

para a região norte do Brasil e novas fronteiras agrícolas, com destaque para a região Centro-Oeste. Caldarelli e Bacchi (2012) citam também outros fatores que impulsionaram a expansão da cultura do milho em terras brasileiras. Outros fatores relacionados à economia e comercialização do grão, como maior rentabilidade do agricultor com a valorização do grão, desregulamentação da economia e acordos internacionais com redução das tarifas de importação, impulsionaram a produção nacional de grãos colocando o Brasil em uma posição de maior competitividade no agronegócio que envolve a produção de cereais. Para CONAB (2017), o aumento da produção está diretamente relacionado a dois fatores, a ampliação de novas áreas de cultivo em novas fronteiras agrícolas e a adoção de tecnologias capazes de promover resultar em maior produtividade nas tradicionais áreas de cultivo (Sul e Sudeste).

De Souza et al. (2018), compararam o crescimento da cultura do milho em área e produtividade, entre 1976/77 e 2015/16, e constataram que a produção nacional de milho cresceu 245,5%. Observou-se um incremento de 250% na produtividade no mesmo período, tendo uma variação de aproximadamente 33% na média do período, quando analisado um conjunto de dez anos. Referente às áreas de cultivo, houve uma expansão média de 34,97%, saltando de 11,7 para 15,9 milhões de hectares de áreas destinadas ao cultivo do cereal. Além disso, a partir de meados da década de 80, o cultivo do milho se deslocou da região Sul e Sudeste para as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Das principais novas fronteiras produtoras do milho, o destaque ficou para a região Centro-Oeste, com ganhos de produção de 520%. A prática que interferiu mais nesta mudança de cenário foi o cultivo da segunda safra, que é a grande responsável pelo crescimento desta região geográfica. O estado do Paraná até a safra de 2011/12, manteve a liderança absoluta do maior produtor nacional do grão. No entanto, a partir da safra de 2012/13, o Mato Grosso assumiu a liderança. O crescimento das áreas disponíveis para plantio justifica a produção dos dois principais estados produtores. O

estado do Paraná teve uma expansão de 21,3% ao longo do período estudado (1976/2016), porém o Mato Grosso teve um crescimento exponencial, 1.436,6% no mesmo período. O crescimento da demanda de proteína animal no mundo, reflete a necessidade de aumento da produção de rações e conseqüentemente influencia diretamente no crescimento da cadeia produtiva do milho.

### 3.2. Biologia de *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepdoptera: Noctuidae) é um inseto-praga que abrange uma grande área no continente americano, causando dano econômico em lavouras da América do Sul, América Central e América do Norte, onde há relatos de migrações de mariposas, fase adulta do inseto, durante a primavera, outono e verão. (SPARKS, 1979; ASHLEY et al., 1989; NAGOSHI e MEAGHER, 2008).

No Brasil, a praga causa dano econômico durante todos os meses do ano, pois as condições de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade são ótimas para o desenvolvimento e multiplicação do inseto. Além das condições ambientais, o hábito alimentar de *S. frugiperda* consiste em uma dieta diversificada como aveia, arroz, milho, sorgo, trigo, algodão e pastagens, em um alto grau de polifagia. Todas estas culturas são cultivadas no Brasil e a incidência de perdas é bastante expressiva.

Após a formação do cartucho, diferenciação foliar que dará origem ao pendão, a lagarta se aloja em seu interior dificultando as medidas de controle, principalmente o químico, mais utilizado pelos agricultores. Apesar de eficiente e bastante utilizado, o controle químico pode gerar problemas como maior risco de contaminação ambiental, aumento nos custos de produção (MENDES et al., 2011), além de ser, na maioria das vezes incompatível com outros métodos de controle (SÁ et al., 2009).

A lagarta-do-cartucho é uma fase do lepidóptero que apresenta metamorfose completa, caracterizando-se por apresentar hábitos noturnos, os quais dificultam o controle químico e biológico por soluções de ingredientes ativos de contato. O ciclo de vida completo finaliza em 30 dias em média, em condições controladas. A fêmea adulta de *S. frugiperda* geralmente faz sua ovoposição de 100 a 200 ovos, em média, na face inferior das folhas. Após a eclosão, as larvas de primeiro ínstar, iniciam sua alimentação “raspando” geralmente os tecidos verdes de um lado da folha sem que este dano

atravesse para a outra face, deixando a epiderme membranosa do outro lado intacta. Este dano inicial denominado “raspagem” é uma indicação inicial muito característica da presença de larvas jovens de *S. frugiperda* na planta, pois poucas larvas de lepidópteros possuem este hábito alimentar. Esta fase permanece por um período curto, de quatro a seis dias em geral e é a fase crítica de controle. As lagartas neonatas produzem um fio de seda que são fixados em uma superfície da planta e fica pendurado por ele, o que facilita a dispersão por ventos para outras plantas vizinhas, este fenômeno é denominado balonismo (ZALUCKI et al., 2002, MOORE e HANKS, 2004).

Na cultura do milho, normalmente esta fase ocorre no estágio V2, onde as folhas estão bem jovens e pouco lignificadas, facilitando a raspagem das larvas jovens. Posteriormente, as larvas dispersam das folhas em direção ao cartucho, no caso de algumas gramíneas como o milho, onde se alimentam perfurando o tecido foliar até finalizar a fase larval. Após o terceiro ínstar, as lagartas competem por espaço e alimento, e comumente se comportam como canibais e ocorre a permanência de apenas um indivíduo no cartucho de cada planta. Além dos danos físicos que causam nas folhas, a praga reduz a área fotossintetizante da planta e, em casos severos de ataque, podem destruir o pendão ainda encartuchado e até mesmo matar a planta. Após a fase larval, quando se aproxima da fase de pupa, as lagartas alojadas no cartucho das plantas descem para formar a pupa no solo próximo à base da planta (VALICENTE e TUELHER, 2009).

Em condições de laboratório, e sob temperatura média de 25 °C, o período de incubação varia entre diferentes genótipos e, na maioria das vezes ocorre entre dois e três dias (SANTOS et al., 2004). A fase larval de *Spodoptera frugiperda*, em temperatura de 25 °C, perdura entre 14 e 22 dias (Figura 1). Enquanto a fase de pupa pode variar a duração entre 7 a 13 dias, todos estes aspectos biológicos podem variar em função da



alimentação, temperatura, umidade relativa e principalmente do genótipo em questão (BARROS et al., 2010).

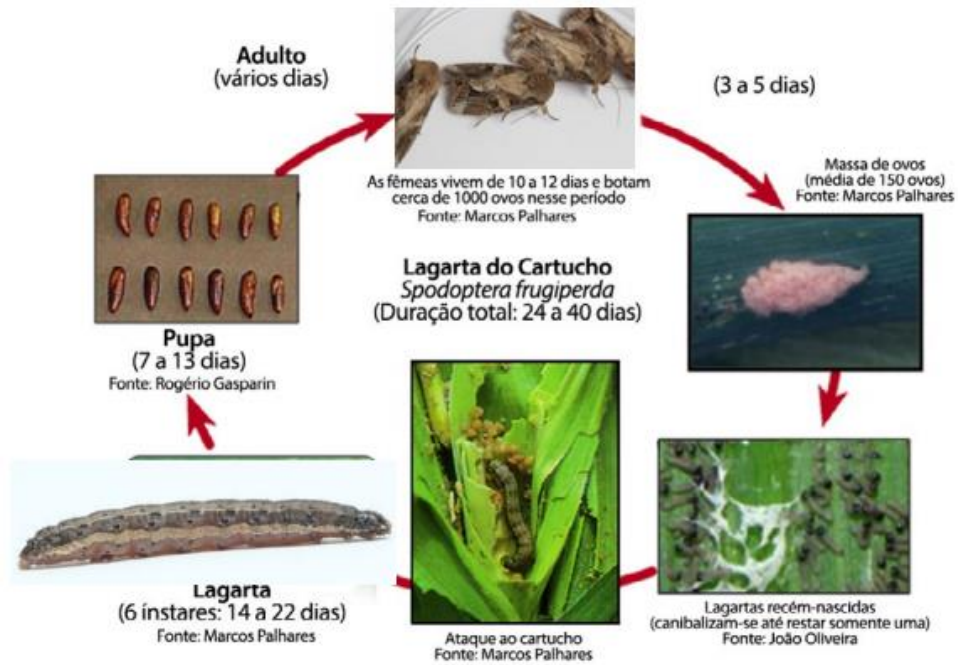


Figura 1. Ciclo médio de vida da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*.  
Fonte: Marcos Palhares, Manual de Pragas 2015.

### 3.3. Adoção de milho Bt no Brasil

A comercialização do primeiro híbrido de milho geneticamente modificado (GM) com proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) nos EUA, ocorreu em 1996 (SIEGFRIED et al., 2007). A partir daí, o cultivo de lavouras comerciais de plantas geneticamente modificadas aumentou exponencialmente, a adoção da tecnologia ocorreu em massa, e geralmente, o uso de inseticidas de amplo espectro tem reduzido (SHELTON et al., 2002; MENDELSON et al., 2003).

Para o controle da lagarta-do-cartucho no milho a aplicação de inseticidas era o método mais utilizado (CORREIA et al., 2009). Com a introdução do milho "safrinha" e ao plantio de milho na época de inverno em algumas localidades com infraestrutura de irrigação, aumentou a pressão de ataques e o dano econômico em lavouras de milho. A espécie *Spodoptera frugiperda* ataca o milho em qualquer época do ano, a frequência e a intensidade de uso de inseticidas têm aumentado nos últimos anos e fracassos no controle de *S. frugiperda* com inseticidas tradicionais (piretróides e organofosforados) têm sido periodicamente relatados (DIEZ-RODRIGUEZ e OMOTO, 2001).

O milho é uma das principais plantas cultivadas que estão sendo geneticamente modificadas para expressar genes codificadores de proteínas Bt com o objetivo de proteção contra insetos-praga (KOZIEL et al., 1993; MOELLENBECK et al., 2001; PEREIRA et al., 2008).

Durante os últimos anos, o risco de intoxicação humana e ambiental com aplicações destes princípios ativos também reduziu. Atualmente, a demanda mundial de milho aumentou. Impulsionada pelo crescimento econômico dos países asiáticos e pela utilização do cereal nos EUA para a produção de etanol. Além disso, o consumo interno dos EUA também aumentou de forma considerável em decorrência do crescimento do setor de carnes, mais especificamente, de aves e suínos (PAVÃO, 2011).

No ano de 2007, ocorreu a liberação comercial dos primeiros eventos de milho geneticamente modificado, eventos MON810 e Bt11, que sintetizam as proteínas Cry1Ab e Cry1Ab PAT, respectivamente. Essas tecnologias de controle genético preventivo passaram a ser utilizadas em quase todas as lavouras visando o manejo de insetos-pragas, neste mesmo ano de 2007 foram plantados 114,3 milhões de hectares com lavouras GM, por mais de 55 milhões de produtores em 23 países do mundo. Estes dados correspondem a 8% do total da área cultivável no mundo (JAMES, 2007).

No ano seguinte, em 2008, híbridos de milho foram cultivados em lavouras comerciais e o evento TC1507, expressando de forma piramidada, as proteínas Cry1F para resistência a inseto, e o evento PAT, para tolerância a herbicida, também foram liberados comercialmente e comercializados em 2009. No ano de 2009 foi liberado comercialmente a primeira piramidação de transgenes Bt, o evento MON89034 que codifica as proteínas Cry1A 105 e Cry2Ab2. Com a grande maioria dos eventos Bt liberados comercialmente expressam proteínas do grupo Cry1, observou-se um índice elevado de resistência cruzada para alguns eventos de milho Bt (BERNARDI et al., 2015; HORIKOSHI et al., 2016; Amaral, 2017).

Mais recentemente, Yang et al. (2017) também detectaram resistência cruzada em eventos que expressam proteínas do grupo Cry2. Atualmente, os eventos geneticamente modificados de milho liberados comercialmente são compostos por diferentes combinações de eventos GM, tanto para resistência a insetos quanto para tolerância aos herbicidas, até o ano de 2017, 45 eventos transgênicos foram liberados comercialmente pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBIO, 2018).

Desde sua introdução no mercado brasileiro, o milho Bt tem sido adotado em larga escala pelos produtores rurais. Essa tecnologia significou uma mudança de paradigma para o manejo integrado de pragas, no qual o usual era utilizar a aplicação de inseticidas químicos. A área estimada de produtos transgênicos na safra de milho 2010/11, foi de

7,37 milhões de hectares ou 57,2% da área total, destacando-se um incremento do milho transgênico na safrinha (LEITE et al., 2011). O milho Bt foi cultivado na safra 2014/2015 em 80% da área total de milho. Já na safra seguinte 2016/17, a área de milho transgênico atingiu 88,4 % da área total (CÉLERES, 2017).

### **3.4. Método de retrocruzamento na introdução de transgenes**

Dentre os diversos métodos para inserir transgenes em linhagens de milho, o método de retrocruzamento é o mais adequado quando o objetivo é a introdução de um ou poucos genes em materiais-elite, o retrocruzamento consiste em cruzar um genitor doador, transgênico e o outro genitor recorrente, que são as linhagens convencionais do programa de melhoramento que se deseja converter. Posteriormente ao cruzamento que resulta a geração F1, as progênies são selecionadas através de seleção molecular e retrocruzadas sequencialmente com o genitor recorrente, até que se recupere o máximo do genoma do parental recorrente, mantendo-se o transgene de interesse. Em um programa de retrocruzamentos, a cada geração, é recuperada, em média, a metade da constituição genética do genitor recorrente em relação à geração anterior. Considerando que o genitor doador é, na maioria das vezes, geneticamente divergente dos genitores recorrentes, são necessários até seis ciclos de retrocruzamento para a recuperação por volta de 99% do genoma recorrente, em plantas diplóides (CARNEIRO et al., 2009).

Uma das limitações do método da introgressão de transgenes por retrocruzamento, é o longo tempo necessário para se completar o processo, fazendo com que o genótipo-elite utilizado como genitor recorrente, muitas vezes se torne obsoleto, ao final do programa de retrocruzamento. Os marcadores moleculares apresentam-se assim como uma ferramenta importante para aumentar a eficiência desse processo, uma vez que possibilitam a identificação de indivíduos com maior proporção do genoma recorrente (OPENSHAW et al., 1994; BERLOO, 1999; HOSPITAL, 2001; BOUCHEZ et al., 2002) citados por Mesquita et al. (2005).

Alguns fatores tornam este método complexo, um exemplo são as exigências de biossegurança quando estes eventos ainda estão regulamentados. Para cada evento transgênico a ser inserido, é necessário um alto investimento de recursos financeiros e o período para se obter o produto final é relativamente longo. Então, a forma mais rápida

e eficiente de transferir evento para o germoplasma a ser modificado, é por meio de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares. Esse processo permite a seleção de progênies que contenham o transgene com a menor região flanqueadora do parental doador, com a maior recuperação do genoma recorrente STEWART Jr. et al., (2003). O uso de marcadores moleculares para introgressão de transgenes aumentou a capacidade de detecção e quantificação de troca específica nestas regiões genômicas apenas do transgene de interesse (RIESEBERG et al., 2000). A utilização de marcadores moleculares para a identificação de indivíduos com maior proporção do genoma recorrente permitiu reduzir o número de retrocruzamentos requeridos para recuperar o genoma do mesmo (ALZATE-MARIN et al., 1999; FALEIRO et al., 2001) citados por Alzate-Marin et al. (2005a)

A utilização de marcadores moleculares em programas de introgressão de genes por retrocruzamento é o exemplo mais concreto de melhoramento genético assistido por marcadores moleculares (GUIMARÃES e MOREIRA, 1999; FONSECA et al., 2009). O método de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares pode ser utilizado tanto para a seleção do transgene de interesse quanto para a seleção do genoma recorrente, em cada fase do processo de restauração do genoma original (HOWARD e HOOD, 2016). A seleção de transgenes utilizando marcadores moleculares fornece diversas vantagens, tais como redução dos custos e seleção precoce dos indivíduos de interesse, em situações onde a característica conferida pelo transgene não é de fácil avaliação fenotípica ou quando se deseja piramidar mais de um transgene independente, os marcadores moleculares se tornam muito importantes no processo de seleção (GUIMARÃES et al., 2009).

O uso de marcadores moleculares, particularmente daqueles que flanqueiam o alelo de resistência, pode diminuir consideravelmente o carregamento de genes desfavoráveis que são carregados com os alelos de interesse durante os ciclos de

seleção recorrente. Esses marcadores, se estritamente ligados aos alelos de resistência, podem ser usados na seleção assistida por marcadores moleculares, particularmente nas etapas iniciais e intermediárias dos programas de melhoramento genético com o objetivo de diminuir o número de ciclos, para obtenção de cultivares superiores (ALZATE- MARIN et al., 2005b; OLIVEIRA et al., 2008; ANTONIO et al., 2012).

A seleção do genoma recorrente é realizada utilizando marcadores distribuídos aleatoriamente no genoma (BENCHIMOL et al., 2005). Quanto maior a quantidade de marcadores polimórficos e melhor a distribuição destes entre os cromossomos ao longo do genoma, melhor e mais rápida serão as seleções das progênies que possuam o transgene. Jarboe et al. (1994) trabalhando com o genoma do milho, concluíram que três gerações de retrocruzamento, utilizando 80 marcadores foram suficientes para recuperar 99% do genótipo genitor recorrente.

Hospital et al. (1992) mostraram que a utilização de marcadores moleculares para averiguação da recuperação do genótipo do parental recorrente deve ser realizada em três gerações, sendo que cada marcador deve estar equidistante em pelo menos 30 cM e no máximo 50 cM, pois o aumento da densidade amostrada, resulta em pequenos benefícios.

Frisch et al. (1999a), aumentando o tamanho da população, desde a primeira geração de retrocruzamentos até a terceira geração de retrocruzamentos, reduziu o número de marcadores em até 50% sem afetar a proporção do genótipo do parental recorrente. Este fato influencia drasticamente os custos financeiros com o processo.

Frisch et al. (1999b), salientam que o sucesso da recuperação do genótipo recorrente depende de alguns pontos importantes como a posição cromossômica do locus-alvo, o conhecimento das regiões genômicas flanqueadoras deste locus-alvo, e o número de indivíduos avaliados.

Ribaut et al. (2002) apresentaram simulações utilizando diferentes estratégias e o genoma do milho como modelo para comparar a introgressão alélica com marcadores de DNA através de retrocruzamentos.

Morris et al. (2003) também testaram três ciclos de retrocruzamento assistido com 50 marcadores e demonstraram que esta quantidade de ciclos é suficiente para uma recuperação superior a 99% do genoma recorrente em milho. Tais condições, são importantes para a redução do tempo e do custo para a obtenção de linhagens isogênicas.

Mesquita et al. (2005) obtiveram duas progênies RC<sub>2</sub> F<sub>1</sub> apresentando 98,2% do genoma recorrente, utilizando 68 marcadores microssatélites aleatoriamente, distribuídos no genoma do milho. Esta seria a porcentagem média de similaridade genética do genoma recorrente, esperada no quinto ciclo de retrocruzamento.



### 3.6. Dinâmica de eficácia de toxinas Bt resistentes a *Spodoptera frugiperda*

Os híbridos de milho contendo eventos transgênicos Bt (*Bacillus thuringiensis*) caracterizam-se como uma tecnologia para o manejo de pragas, utilizada no Brasil desde a safra 2008/09, que expressa proteínas inseticidas que atuam contra diversas pragas, destacando-se os lepidópteros, dentre eles, a lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae), principal praga da cultura. Entretanto, esses insetos respondem de forma distinta às diferentes toxinas. Nesse contexto, diferentes respostas à pressão de seleção para a resistência, têm sido observadas nas pragas-alvo do milho Bt. E conseqüentemente, as resistências das pragas podem causar à perda desta tecnologia. Assim, é de extrema importância que se faça um manejo correto em campo para preservar a sua utilização no manejo integrado de pragas (LEITE et al., 2011).

Os avanços na área de biotecnologia permitem o desenvolvimento de genótipos de milho Bt que expressam mais de uma proteína inseticida, as quais frequentemente apresentam modos de ação independentes e quando piramidados eleva-se o espectro de ação e conseqüentemente a eficácia do controle preventivo (MOAR e ANILKUMAR, 2007). Desta forma, quando estas premissas são atendidas, a piramidação de genes Bt pode retardar o aumento de populações de insetos resistentes e prolongar a eficácia de determinados genes de resistência (HEAD e GREENPLATE, 2012). O método de piramidação de genes Bt é usualmente caracterizado pelo prolongamento do nível de proteção da planta Bt contra as pragas-alvo (STORER et al., 2012).

Waquil et al. (2014), compararam uma versão transgênica comercial de um híbrido simples, contendo os eventos piramidados que expressam as proteínas Cry1A 105 e Cry2Ab2 e determinaram a proteção contra *S. frugiperda* e *Diatraea saccharalis*, onde não foi necessário controle químico. Avaliando outro híbrido Bt que expressa apenas a proteína Cry1A(b), os danos causados por *S. frugiperda* reduziram, porém não foram

totalmente eficazes. Portanto, o uso de controle químico deve ser considerado. Para o controle de *D. saccharalis*, tanto a utilização de uma proteína Bt, quanto o uso dos eventos piramidados, foram eficazes e o rendimento de ambos foi maior que o rendimento do híbrido convencional. Os híbridos transgênicos apresentaram menores danos nas espigas, causados por *Helicoverpa* spp. ou *S. frugiperda* do que o híbrido convencional.

Os insetos-praga podem desenvolver resistência às toxinas Bt tanto em condições de laboratório quanto em condições de campo (TABASHNIK et al., 2013; FERRÉ et al., 2002). Algumas espécies de insetos em diferentes países do mundo, já desenvolveram resistência às toxinas Bt em condições de campo ou em casas de vegetação (JANMAAT et al., 2003; ZHANG et al., 2011). Este problema ocorre devido à alta variabilidade genética do inseto e à pressão de seleção que ocorre pelas toxinas Bt que estão no mercado, representando a principal ameaça à eficácia de longo prazo das toxinas Bt.

Uma das estratégias estabelecidas para retardar a evolução da resistência de insetos a culturas Bt é o uso de áreas de refúgio, com plantios de cultivares convencional, que não contêm eventos transgênicos resistentes a insetos. Os refúgios permitiram a sobrevivência de populações de insetos suscetíveis que poderiam acasalar com os poucos insetos resistentes selecionados nas áreas com cultivos Bt. Se inicialmente a frequência alélica de resistência é baixa e é conferida por uma característica recessiva, a progênie heterozigótica deste cruzamento apresentaria alta suscetibilidade à proteína tóxica Cry expressa em culturas Bt (MONNERAT et al., 2015).

É crucial que a dose de toxina Bt expressa na planta Bt, seja suficiente para controlar insetos heterozigotos. Esta estratégia é eficaz em retardar a evolução da resistência de insetos aos eventos transgênicos oriundo de toxinas Bt (TABASHNIK et al., 2008). No Brasil, dois fatores interferem negativamente no sucesso da estratégia de

refúgio. Eles tornam ineficientes e dificultam o cultivo de milho com alto rendimento de grãos nestas áreas. Um deles é a não obrigatoriedade pelos órgãos governamentais. O Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA) sugere uma área de refúgio de 10% com plantas convencionais, não Bt. O segundo fator, é que mesmo que os produtores plantem áreas de refúgio, eles normalmente fazem aplicações de inseticidas químicos para controlar a lagarta-do-cartucho e demais insetos-praga. Caso contrário, o dano econômico resulta em um prejuízo considerável e torna inviável o plantio destes genótipos convencionais. Diante desta realidade, as populações susceptíveis às toxinas Bt, que deveriam ser mantidas vivas nestas áreas destinadas ao refúgio, são controladas quimicamente com aplicações de inseticidas.

Outras estratégias de refúgio para manter a eficácia de toxinas Bt vêm sendo propostas por alguns autores, que afirmam que a eficácia é prolongada com a utilização de refúgio no saco ("Refuge in the bag" - RIB). Esta estratégia consiste na mistura de sementes oriundas de genótipos transgênicos e sementes do mesmo germoplasma, porém convencionais, sem nenhum transgene associado, e desta forma vários estudos sugerem que ao invés de 10% de área reservada para refúgio, aproximadamente 5% de sementes não transgênicas, plantadas ao acaso na lavoura, seria suficiente (HEIMPEL et al., 2005; GRAY, 2010; ALYOKHIN, 2011; YANG et al., 2014).

Zancanaro et al. (2012) afirmaram que o RIB deve ser considerado para substituir o método de refúgio tradicional utilizado atualmente, na tentativa de retardar a evolução da resistência ao Bt nas principais pragas da cultura do milho. Afirmam também que a intensidade de danos, de maneira geral, é reduzido com a diminuição na proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia RIB e este método não reflete em diferença de produtividade. Tornando-se uma alternativa economicamente viável. A mistura de sementes, assim como o refúgio, age retardando a evolução da resistência

por manter uma população susceptível para acasalamento, espalhada ao acaso dentro do campo (LEITE et al., 2011).

Desde a década de 90, estudos tem sido publicado alternando resultados quanto à eficiência da utilização de refúgio, tanto estruturado quanto o RIB. Mallet e Porter (1992) demonstraram um modelo computacional que indicou que a mistura de sementes, acelerou o desenvolvimento da resistência em quando comparado com campos onde só havia plantas Bt. Posteriormente, Tabashnik (1994) demonstrou que o RIB é mais eficiente em lavouras com todas as sementes contendo toxinas Bt. Em ambos os estudos os autores concordam que o refúgio estruturado é mais eficiente que o RIB. O benefício do RIB seria que os insetos susceptíveis poderiam migrar mais facilmente para se acasarem com indivíduos resistentes expostos às plantas Bt, além disso, o refúgio estaria sendo inevitavelmente feito se as sementes viessem misturas na embalagem, simplificando o manejo e principalmente a certeza do cumprimento das normas de refúgio. Em contrapartida, a mistura de sementes facilitaria a mobilidade da praga entre as plantas, colocando os insetos susceptíveis em risco de exposição às plantas Bt, os quais poderiam ser mortos e, portanto, ficar em número reduzido (LEITE et al., 2011; ZANCANARO et al., 2012).

No Brasil, até então, nenhuma empresa fornece para o mercado consumidor de sementes de milho híbrido, sacos de sementes com germoplasma transgênico e não transgênico na mesma embalagem. Além disso, poucos estudos no Brasil foram publicados elucidando esta estratégia de refúgio e a manutenção de populações suscetíveis vivas às toxinas Bt. Como a lagarta-do-cartucho ataca a cultura do milho tanto nas fases vegetativas quanto nas fases reprodutivas, é extremamente importante manter um estande uniforme e padronizado nas fases iniciais de estabelecimento da cultura. Estes fatores determinarão a população de plantas por área, e influenciarão diretamente a produtividade de grãos (BUNTIN et al., 1986; KURACHI et al., 1989).

Utilizando-se o RIB e deixando de efetuar o controle químico para manutenção das populações suscetíveis as toxinas Bt, a praga poderá reduzir drasticamente o estande inicial. Em plantas de até 30 dias, ela pode causar sua morte e, em plantas maiores, pode comprometer a produtividade ao alimentar-se do parênquima das folhas, do broto central da planta (cartucho-do-milho) e dos grãos da espiga (CRUZ e TURPIN, 1983; CRUZ et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2006). Portanto, o dinamismo e monitoramento de resistência às toxinas Bt devem ocorrer concomitantemente aos estudos de desenvolvimento de diferentes técnicas de controle genético, transgenia e diferentes modos de ação de toxinas Bt, tanto únicas quanto piramidadas.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONIO, R. P.; DOS SANTOS, J. B.; ALVES, F. C.; GONÇALVES, P. R. C.; DE CASTRO LARA. L. A. Seleção assistida por marcadores de DNA em retrocruzamento visando resistência ao mofo branco em feijoeiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 4, p. 61-67, 2012.

ALYOKHIN, A. Scant evidence supports EPA's pyramided Bt corn refuge size of 5%. **Nature Biotechnology**, Londres, v. 29, n. 7, p. 577, 2011.

ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 333-342, 2005 a.

ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, Brasília, v. 30, n. 4, p. 333-342, 2005 b.

ALZATE-MARIN, A.L.; MENARIM, H.; ARRUDA, M.C.C.; CHAGAS, J.M.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Backcross assisted by RAPD markers for the introgression of Co-4 and Co-6 anthracnose resistant genes in common bean cultivars. **Bean Improvement Cooperative**, Prosser, v. 42, p. 15-16, 1999.

ASHLEY, T. R.; WISEMAN, B. R.; DAVIS, F. M.; ANDREWS, K. L. The fall armyworm: a bibliography. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 72, n. 1, p.152-202, 1989.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, Springer, v. 39, n. 6, p. 996-1001, 2010.

BENCHIMOL, L. L.; SOUZA JR, C. L.; SOUZA, A. P. Microsatellite-assisted backcross selection in maize. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 28, n. 4, p. 789-797, 2005.

BERLOO, R. van. GGT: software for the display of graphical genotypes. **Journal of Heredity**, Cary, v. 90, n. 2, p. 328-329, 1999.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. S.; OKUMA, D. M., SALMERON, E.; FATORETTO, J.; MEDEIROS F.C.L.; BURD. T.; OMOTO, C. Frequency of resistance to Vip3Aa20 toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Crop Protection**, Amstendam, v. 76, p. 7-14, 2015

BOUCHEZ, A.; HOSPITAL, F.; CAUSSE, M.; GALLAIS, A.; CHARCOSSET, A. Markerassisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. **Genetics**, Baltimore, n. 162, p. 1945-1959, 2002.

BUNTIN, G. D. A review of plant response to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), injury in selected field and forage crops. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 69, n.3, p. 549-559, 1986.

CALDARELLI, C. E.; BACCHI, M. R. P. Fatores de influência no preço do milho no Brasil. **Nova Economia**, v. 22, n. 1, p.141-164, 2012.

CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; VALICENTE, F. H.; WAQUIL, J. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, N. P.; MENDES, S. M. **Milho Bt: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Circular técnica, Nº 135), 2009, 25 p.

CÉLERES. **3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2016/17**. Informativo Biotecnologia. Disponível em:< <http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-deadocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617/#>>. Acesso em 08 mai. 2017.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO-CONAB. **Estimativa do escoamento das exportações do complexo soja e milho pelos portos nacionais safra 2016/17.** Disponível em: [https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/compendio-de-estudos-da-conab/item/download/2516\\_c5823fadb57a5c99b622e40fbb8ceac2](https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/compendio-de-estudos-da-conab/item/download/2516_c5823fadb57a5c99b622e40fbb8ceac2). Acesso em: 26 Junho 2017.

CORREIA, A.A.; TEIXEIRA, V.W.; TEIXEIRA, A.A.C.; OLIVEIRA, J.V.; TORRES, J.B. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 1, p. 83- 91, 2009.

CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Tabela de Plantas Aprovadas para comercialização.** Disponível em: <[http:// http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial/](http://http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial/)> Acesso em: 15 Ago. 2018

CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Yield impact of larval infestation of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) to mid-whorl growth stage of corn. **Journal of Economic Entomology**, Indiana, v.76, p.1052- 1054, 1983.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, C. A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**, v. 45, n. 4, p. 293-296, 1999.

DE SOUZA, A. E. DOS REIS, J. G. M.; ABRAHAM, E. R.; MACHADO, S. T. Brazilian Corn Exports: An Analysis of Cargo Flow in Santos and Paranagua Port. In: **International Conference on Advances in Production Management Systems**. Springer, 2017, p.105-112

DE SOUZA, A. E.; DOS REIS, J. G. M.; RAYMUNDO, J. C.; PINTO, R. S. ESTUDO DA PRODUÇÃO DO MILHO NO BRASIL. **South American Development Society Journal**, v. 4, n. 11, p. 182-194, 2018.



DEAGRO. DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO – FIESP. **Balança Comercial Brasileira do Agronegócio - Consolidado 2016**. Disponível em: <http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/balanca-comercial/>. Acesso em: 18/ Junho 2017.

DEPEC. Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos. **Economia em dia**. Disponível em: [https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset\\_cafe.pdf](https://www.economiaemdia.com.br/EconomiaEmDia/pdf/infset_cafe.pdf). Acesso em: 24 Setembro 2017.

DIEZ-RODRIGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistemas de Produção Embrapa/MILHO**. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/temas-publicados> . Acesso em: 26 Junho 2017.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; CARVALHO, G.A.; PAULA Jr., T.J.; MOREIRA, M.A. BARROS, E.G. Development of common bean lines resistant to rust and anthracnose by molecular marker-assisted backcrossing. **Bean Improvement Cooperative**, Prosser, v. 44, p. 109-110, 2001.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 501–533, 2002.

FIGUEIREDO, M. L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1693-1698, 2006.

FONSECA, K.G.D.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SILVA, M.S.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, K.P; VAZ, C.D.F. Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 145-153, 2009.

FORESTI, J.; BASTOS, C. S.; FERNANDES, F. L.; SILVA, P. R. D. Economic injury levels and economic thresholds for *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Hemiptera: Coreidae) infesting seed maize. **Pest Management Science**, Londres, v. 74, n. 1, p. 149-158, 2018.

FRISCH, M.; BOHN, M.; MELCHINGER, A. E. Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of a gene. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1295-1301. 1999a

FRISCH, M.; BOHN M.; MELCHINGER, A.E. Minimum sample size and optimum positioning of flanking markers in marker-assisted backcrossing for transfer of a target gene. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 967-975. 1999b

GAVA, R.; SNYDER, R. L.; FRIZZONE, J. A.; KULN, I. E.; COTRIM, M. F.; PIATI, G. L. Maize second season irrigated by enter pivot in sandy soil. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, Fortaleza, v. 12, n. 2, p. 2554-2560, 2018.

GRAY, M. E. Relevance of traditional integrated pest management (IPM) strategies for commercial corn producers in a transgenic agroecosystem: a bygone era? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 11, p. 5852-5858, 2010.

GUIMARÃES, C. T.; DE MAGALHÃES, J. V.; LANZA, M. A.; SCHUSTER, I. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, p. 24-33, 2009.

GUIMARÃES, C.T.; MOREIRA, M.A. Genética molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: BOREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999, p.715-740.

HEAD, G.P.; GREENPLATE, J. The design and implementation of insect resistance management programs for Bt Crops. GM Crops and Food: **Biotechnology in Agriculture and the Food Chain**, v. 3, n. 3, p. 144-153, 2012.

HEIMPEL, G. E.; NEUHAUSER, C.; ANDOW, D. A. Natural enemies and the evolution of resistance to transgenic insecticidal crops by pest insects: the role of egg mortality. **Environmental entomology**, Oxford, v. 34, n. 3, p. 512-526, 2005.

HORIKOSHI, R. J., BERNARDI, D., BERNARDI, O., MALAQUIAS, J. B., OKUMA, D. M., MIRALDO, L. L., AMARAL, F. S.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, Londres, v. 6, p.34864, 2016.

HOSPITAL, F. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. **Genetics**, Baltimore, n. 158, p. 1363-1379, 2001.

HOSPITAL, F. Size of donor chromosome segments around introgressed loci and reduction of linkage drag in marker-assisted backcross programs. **Genetics**, Baltimore, n. 158, p. 1363-1379, 2001.

HOSPITAL F.; CHEVALET C.; MULSANT P. Using markers in gene introgression breeding programs. **Genetics**, Baltimore, v. 132, n. 4, p. 1199-1210, 1992.

HOWARD, J. A.; HOOD, E. E. Commercial PlantProduced Recombinant Protein Products: Case Studies, Biotechnology. In: **Agriculture and Forestry**, Springer, v. 68, 2016, 281 p.

JAMES, C. **Global status of commercialized transgenic crops: 2007**. Disponível em: <<http://www.isaaa.org>>. Acesso em: 24 fev. 2018.

JANMAAT, A.F.; MYERS, J.H.; Rapid evolution and the cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in greenhouse populations of cabbage loopers, *Trichoplusia ni*. **Proceedings of the Royal Society B**, Londres, v. 270, n. 1530, p. 2263-2270, 2003.

JORBOE, S. G.; BEAVIS, W. D.; OPENSHAW, S. J. Prediction of responses to selection in marker-assisted backcross programs by computer simulation. **Abstracts of the Second International Conference on Plant Genome**, Scherago International Inc., 1994. 38 p.

KOZIEL, M.G.; BELAND, G.L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N.B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAND, L.; DAWSON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; LEWIS, K.; MADDOX, D.; MCPHERSON, K.; MEGHJI, M.R.; MERLIN, E.; RHODES, R.; WARREN, G.W.; WRIGHT, M.; EVOLA, S.V. Field Performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Nature Biotechnology**, Londres, v. 11, p. 194–200, 1993.

KURACHI, S. A. H.; COSTA, J. A. S.; BERNARDI, J. A.; COELHO, J. L. O.; SILVEIRA, G.M. Avaliação tecnológica de semeadoras e/ou adubadoras: tratamento de dados de ensaios e regularidade de distribuição longitudinal de sementes. **Bragantia**, Campinas, v. 48, n. 2, p. 249-62, 1989.

LEITE, N. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; PEREIRA, E. J. G. **O milho Bt no Brasil: a situação e a evolução da resistência de insetos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011 (Documentos, Nº 133) 33 p.

MALLET, J.; PORTER, P. Preventing insect adaptation to insect resistant crops: are seed mixtures or refugia the best strategy? **Biological Sciences**, Londres, v. 250, p. 165-169, 1992.

MENDES, S. M; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. 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.

MENDELSON, M.; KOUGH, J.; VAITUZIS, Z.; MATTHEWS, K. Are Bt crops safe? **Nature Biotechnology**, Londres, v. 21, p. 1003–1009. 2003.

MESQUITA, A. G. G.; GUIMARÃES, C. T.; PARENTONI, S. N.; PAIVA, E. Recuperação do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 275-285, 2005.

MOAR, W. J.; ANILKUMAR, K. J. Plant Science. The power of pyramid. **Science**, v. 318, p.1561-1562, 2007.

MOELLENBECK, D.J.; PETERS, M.L.; BING, J.W.; ROUSE, J.R.; HIGGINS, L.S.; SIMS, L.; NEVSHEMAL, T.; MARSHALL, L.; ELLIS, R.T.; BYSTRAK, P.G.; LANG, B.A.; STEWART, J.L.; KOUBA, K.; SONDAG, V.; GUSTAFSON, V.; NOUR, K.; XU, D.P.; SWENSON, J.; ZHANG, J.; CZAPLA, T.; SCHWAB, G.; JAYNE, S.; STOCKHOFF, B.A.; NARVA, K.; SCHNEPF, H.E.; STELMAN, S.J.; POUTRE, C.; KOZIEL, M.; DUCK, N. Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* protect corn from corn rootworms. **Nature Biotechnology**, Londres, v. 19, p. 668–672. 2001.

MONNERAT, R., MARTINS, E., MACEDO, C., QUEIROZ, P., PRAÇA, L., SOARES, C. MOREIRA, H., GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. (2015). Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. **PLoS One**, Washington, v. 10, n. 4, 2015.

MOORE, R. G.; HANKS, L. M. Aerial dispersal and host plant selection by neonate *Thyridopteryx ephemeraeformis* (Lepidoptera: Psychidae). **Ecological Entomology**, Londres, v. 29, n. 3, p. 327-335, 2004.

MORRIS, M.; DREHER, K.; RIBAUT, J. M.; KHAIRALLAH, M. Money matters (II): costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and assisted selection. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 11, p. 235-247, 2003.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 91, n. 4 p.546-554, 2008.

OLIVEIRA, L. K.; MELO, L. C.; BRONDANI, C.; PELOSO, M. J. D.; BRONDANI, R. P. V. Backcross assisted by microsatellite markers in common bean. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 1000-1010, 2008.

OPENSHAW, S. J. JARBOE, S.G. BEAVIS, W.D. Marker-assisted Selection in Backcross Breeding, Analysis of Molecular Marker Data, Joint Plant Breeding Symposia

Series. **American Society for Horticultural Science Crop Science Society of America**, Corvallis, p. 41-43, 1994.

PAVÃO, A. R.; FERREIRA FILHO, J. B. S. Impactos econômicos da introdução do milho Bt11 no Brasil: uma abordagem de equilíbrio geral inter-regional. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 49, n. 1, p. 81-108, 2011.

PEREIRA, E. J. G.; STORER, N. P.; SIEGFRIED, BLAIR D. Inheritance of Cry1F resistance in laboratory-selected European corn borer and its survival on transgenic corn expressing the Cry1F toxin. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge. v. 98, n. 6, p. 621-629, 2008.

REIS, J. G. M.; VENDRAMETTO, O.; NAAS, I. D. A.; COSTABILE, L. T.; MACHADO, S. T. Avaliação das Estratégias de Comercialização do Milho em MS Aplicando o Analytic Hierarchy Process (AHP). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 54, n. 1, p.131-146, 2016.

RIBAUT, J.M.; HOISINGTON, D. Simulation experiments on efficiencies of gene introgression by backcrossing. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 557-565, 2002.

RIESEBERG, L. H.; BAIRD, S. J.; GARDNER, K. A. Hybridization, introgression, and linkage evolution. **Plant Molecular Evolution**, Springer, v. 42, p. 205-224, 2000.

SÁ, V. G. M.; 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**, Santo Antônio de Goiás-GO, v. 38, p. 108-115, 2009.

SANTOS, L. M. S.; REDAELLI, L. R. DIRFENBACH, L. M. G.; EFROM, C. F. S. Fertility and longevity of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn genotypes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 345-350, 2004.

SHELTON, A. M.; ZHAO, J. Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto v. 47, p. 845–881, 2002.

SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; CRESPO, A. L.; STORER, N. P.; HEAD, G. P.; OWENS, E. D.; GUYER, D. Ten years of Bt resistance monitoring in the European corn borer: what we know, what we don't know, and what we can do better. **American Entomologist**, Baltimore, v. 53, p. 208-214, 2007.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 62, n. 2, p. 82-87, 1979.

STEWART JR, C. N.; HALFHILL, M. D.; WARWICK, S. I. Genetic modification: transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v. 4, n. 10, p. 806-817, 2003.

STORER, N.P.; THOMPSON, G.D.; HEAD, G.P. Application of pyramided traits against Lepidoptera in insect resistance management for Bt crops. **GM Crops and Food: Biotechnology in Agriculture and the Food Chain**, v. 3, n. 3, p. 154-162, 2012.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 47-79, 1994.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**. Londres, v. 31, n. 6, p. 510–521, 2013.

TABASHNIK, B.E.; GASSMANN, A.J.; CROWDER, D.W.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, Londres, v. 26, n. 2, p. 199–202, 2008.

USDA. United States Department of Agriculture - World Agricultural Supply and Demand Estimates Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/commodities/corn>. Acesso em: 21 Junho 2017.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S. **Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus**. Circular Técnica, 114, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009.

WAQUIL, J. M.; DOURADO, P. M.; DE CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, W. S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; MARTINELLI, S. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento Bt piramidado Cry1A. 105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 12, p. 1529-1537. 2014

YANG, F.; KERNS, D. L.; HEAD, G. P.; LEONARD, B. R.; LEVY, R.; NIU, Y.; HUANG, F. A challenge for the seed mixture refuge strategy in Bt maize: impact of cross-pollination on an ear-feeding pest, corn earworm. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 11, e112962, 2014.

YANG, F.; KERNS, D. L.; HEAD, G. P.; PRICE, P.; HUANG, F. Cross-resistance to purified Bt proteins, Bt corn and Bt cotton in a Cry2Ab2-corn resistant strain of *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management science**, Londres, v. 73, n. 12, p. 2495-2503, 2017

ZHANG, H.; YIN, W.; ZHAO, J.; JIN, L.; YANG, Y.; WU, S.; TABASHNIK, B.E.; WU, Y. Early warning of cotton bollworm resistance associated with intensive planting of Bt cotton in China. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 8, e22874, 2011.

ZALUCKI, M. P.; CLARKE, A. R.; MALCOLM, S. B. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto v. 47, n. 1, p. 361-393, 2002.

ZANCANARO, P. O.; BUCHWEITZ, E. D.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; MORO, J. R. Avaliação de tecnologias de refúgio no cultivo de milho transgênico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 7, p. 886-891, 2012.



# **CAPÍTULO 1. DESEMPENHO DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS NO BRASIL**

Parte do capítulo publicado em:

RAMOS, L.R.; SOUSA, N.O.S.; KOBIRAKI, M. Comparison between the performance of genetically modified and conventional maize hybrids in Brazil, **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 12, n. 11, p. 1732-1737, 2018.

## RESUMO

Este estudo avaliou o desempenho em produtividade de cinco híbridos de milho (HP2251, HP5253, HP6490, HP8761 e HP0297). O objetivo deste trabalho foi comparar uma versão não transgênica (base genética convencional), uma transgênica (Bt) (com o evento TC1507) e uma transgênica (Bt) com dois eventos (MON810 e TC1507), para cada um dos cinco híbridos. O experimento foi conduzido em lavouras comerciais na safra 2014/2015, com infestação natural de larvas da lagarta-do-cartucho e controlada com inseticidas. Três campos experimentais foram plantados no Distrito Federal, dois em Minas Gerais e três em Goiás. O delineamento experimental foi de blocos casualizados em esquema fatorial 5 x 3, 5 híbridos e 3 versões, em oito locais, com duas repetições. As parcelas experimentais foram de quatro linhas de cinco metros, considerando-se útil apenas as duas linhas centrais. Para estimativa de produção de grãos, as parcelas foram colhidas e o peso foi extrapolado para  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  e a umidade foram padronizados em 14%. Os dados de colheita foram submetidos à análise estatística utilizando o programa ASReml para obtenção das predições (BLUP) dos efeitos genotípicos e o processo de REML para a estimativa dos componentes de variância e dos parâmetros genotípicos. Não houve evidências de diferenças de rendimento de grãos devido à presença ou ausência dos eventos transgênicos em estudo. As variações de produtividade dos híbridos observadas foram decorrentes da adaptabilidade destes genótipos à região Centro-Oeste do Brasil em terras altas. Os eventos transgênicos deste estudo não foram os fatores determinantes para o aumento de rendimento, indicando possível interação específica entre genótipos e eventos Bt. Portanto, um novo híbrido transgênico deve sempre ser comparado à sua contraparte convencional antes da decisão de lançamento no mercado.

**Palavras-chave:** Resistência genética, *Spodoptera frugiperda*, versões transgênicas, rendimento, *Zea mays*

## ABSTRACT

This study evaluates the yield performance of five maize hybrids (HP2251, HP5253, HP6490, HP8761 and HP0297). The aim of this work was to compare a non-transgenic (base genetics), a transgenic (Bt) with TC1507 and a transgenic (Bt) with MON810+TC1507 for each hybrid. The experiment was conducted in farms during 2014-2015 season, with natural infestation of fall armyworm and controlled by spraying insecticides. Three locations were planted in the Federal District, another two in Minas Gerais and three in Goiás (Brazil). The experimental design was a complete randomized block of 5 x 3 factorial arrangement in 8 locations, 5 hybrids and 3 versions, with two replicates. The plot size was four rows of five meters. For grain yield, data on weight was converted to  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  and moisture was standardized to 14%. Harvest data was submitted to statistical analysis using ASReml program to obtain yield predictions of genotypic effects. The estimation of variance components and genotypic parameters were obtained by Restrict Maximum Likelihood process. There were no significant differences when the treatments were analysed for the presence or absence of transgenic genes. The yield differences in the hybrids were due to the adaptability of those genotypes to the Brazil central high lands and not necessarily to the insertion of Bt genes. The transgenic insertions were not a determinant factor for yield reduction, indicating a specific interaction between genotypes and Bt events for yield. Therefore, a new transgenic hybrid always must be compared to its conventional counterpart before release decision.

**Keywords:** genetic resistance, *Spodoptera frugiperda*, transgenic versions, yield performance, *Zea mays*

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho (*Zea mays* L.) do mundo com aproximadamente 93 milhões de toneladas, atrás dos EUA e China. A exportação de milho do Brasil corresponde a 18% do total de milho exportado no mundo atrás apenas dos EUA (USDA, 2017). A produção de milho na safra de verão 2016/17 quebrou o recorde como a maior safra da história, com uma produção de 97,7 milhões de toneladas, aumento de 46% em relação à safra do ano anterior, este aumento ocorreu tanto pela área expandida quanto na produtividade por área.

A produção recorde de milho do Brasil levou a um recorde de exportações estimado em 35 milhões de toneladas em 2016/2017, mais do que dobrando o volume de exportações de 2015 (USDA, 2017).

A área de milho de verão plantada na safra 2016/17 foi de 5,4 milhões de hectares, enquanto a área de entressafra (segunda safra de 2015) foi de 12,1 milhões de hectares. Essas áreas colocam o milho como a segunda maior safra do Brasil, atrás apenas da soja (*Glycine max* L.), com uma estimativa de mais de 34 milhões de hectares plantados em 2016/17 (CONAB, 2017).

Devido à grande abrangência de cultivo de milho no Brasil, onde na região sul e sudeste normalmente cultivam-se milho na primeira safra, e nas regiões Sul e Centro-Oeste na safrinha, no entanto o milho é predominantemente plantado em regiões de clima tropical onde também se destaca pela elevada incidência de pragas. A principal praga da cultura do milho é a lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Quando não manejada corretamente, através de controle químico, biológico e/ou genético, as perdas são variáveis dependendo da fase fenológica

da cultura e da época do ano. Vários autores relatam perdas em até 34% por este fator (CRUZ e TURPIN, 1983; CRUZ, 1995; FIGUEIREDO et al., 2006; WERLE et al., 2011).

Alguns aspectos biológicos de *S. frugiperda* como a elevada polifagia, alta capacidade de reprodução, facilidade em dispersão da fase adulta e uma grande quantidade de ciclos que podem chegar até oito por ano-safra, são fatores que favorecem a ocorrência de infestações severas (BERNARDI et al., 2015). Estes fatores dificultam e oneram consideravelmente o controle.

Além dos aspectos que envolvem a biologia da praga, atualmente a área plantada na safrinha, compreende aproximadamente 59% da área total de milho cultivado no Brasil. Os outros 41% são cultivados no verão. Conseqüentemente a janela de plantio de milho no Brasil se estende e atualmente encontra-se milho em diferentes estádios fenológicos por aproximadamente doze meses no ano (CONAB, 2017). Este fato intensifica a pressão da praga na sua fase adulta que, através de migração, infestam lavouras de milho em fases mais jovens.

Como opção de controle preventivo, prático e eficaz de insetos, o melhoramento genético é bastante utilizado para diferentes pragas e em diferentes culturas, em diversas partes do mundo. No Brasil, a principal estratégia de controle genético para *S. frugiperda* é a utilização de híbridos de milho transgênicos que expressam o gene Bt, clonado da bactéria *B. thuringiensis* (Berliner), que codifica uma proteína tóxica para vários insetos (BOUDER, 1993; WAQUIL et al., 2002).

Nos países produtores de milho, 231 eventos transgênicos foram aprovados e 202 deles foram aprovados especificamente para controle de insetos de milho. A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) aprovou 39 eventos para fins comerciais de eventos transgênicos para o milho no Brasil. Dezesesseis eventos foram aprovados para resistência a insetos lepidópteros, seis para coleópteros e três para resistência múltipla a insetos (ISAAA, 2015). O evento MON810, tecnologia YieldGard foi eficaz no

controle de *S. frugiperda* e *Helicoverpa zea* no sul da Geórgia em 1998 em híbridos de milho (BUNTIN et al., 2001).

Híbridos de milho expressando a proteína Cry1Ab (evento MON810) ou expressando a proteína Cry1F (evento TC1507), também testados nos EUA, foram eficazes no controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* em 2006 e 2007 (BUNTIN, 2008). Siebert et al. (2008) também obtiveram elevados níveis de controle de *Spodoptera frugiperda* em híbridos de milho transgênicos expressando Cry1F no sudeste dos EUA.

A proteína Cry1F expressa em milho pelo evento TC1507 liberado comercialmente em 2008, e comercializada a partir de 2009, foi utilizada com sucesso no Brasil por alguns anos. Contudo, larvas neonatas de *S. frugiperda* coletadas em campos de milho transgênico TC1507 com danos na região Oeste da Bahia, em 2011, foram capazes de sobreviver em plantas de milho Cry1F em condições de laboratório e, posteriormente, produzindo adultos férteis (FARIAS et al., 2014). Este fato indica que existe um dinamismo na eficácia destes eventos transgênicos nas condições de cultivo, épocas de plantio e abrangência de áreas de milho no Brasil. Portanto outros eventos, expressando diferentes proteínas Bt fazem-se necessário para o controle de *Spodoptera frugiperda*.

Os trabalhos relacionados a híbridos de milho transgênicos focam essencialmente em testes de eficácia, tanto das proteínas inseticidas como das plantas transgênicas, e monitoramento de eficácia de determinado evento ao longo dos anos (safras). Contudo, é importante comparar o quão similar o desempenho das versões dos híbridos transgênicos são em relação às versões dos híbridos convencionais correspondentes. E diferentemente dos testes de eficácia, os testes de desempenho devem ocorrer em condições ótimas de plantio, manejo, tratamentos culturais e principalmente com aplicações de inseticidas em todos os tratamentos. Portanto, o trabalho teve como objetivo estudar a rentabilidade em produção de grãos de híbridos de milho transgênicos, e seus

correspondentes convencionais, em fazendas de produção de grãos a fim de comparar seus potenciais produtivos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Materiais vegetais**

Híbridos de milho adaptados para a região Centro-Oeste e Norte do Brasil, com alto potencial produtivo e diferentes ciclos de maturidade foram selecionados para determinar o efeito da inserção de eventos transgênicos na produção de grãos. Outro relevante fator foi uma boa tolerância as principais doenças foliares, de raízes e podridões de grãos de milho, tais quais são frequentes nesta região do Brasil.

### **2.2. Tratamentos**

Foram avaliados cinco híbridos, identificados como HP2251, HP5253, HP6490, HP8761 e HP0297, cada um deles contendo três versões diferentes, sendo elas a convencional (C), a versão expressando a proteína Cry 1F (evento TC1507) (H) e outra versão transgênica expressando duas proteínas Bt, Cry 1Ab e Cry 1F (eventos MON810 e TC1507) (YH). Os tratamentos foram classificados pela produtividade de grãos, onde o primeiro foi o mais produtivo e o décimo quinto o menos produtivo.

### **2.3. Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em lavouras comerciais no ano agrícola 2014-2015 em oito fazendas produtoras de milho, em três estados do Brasil, três no Distrito Federal, duas em Minas Gerais e três em Goiás, descritos na tabela 1. Estas fazendas foram escolhidas por estarem no bioma cerrado com altitudes maiores que 700 metros do nível médio do mar. Em todos os locais, os plantios ocorreram diretamente nas palhadas remanescentes das culturas anteriores. Para garantir que o efeito genotípico de rendimento de grãos não fosse influenciado pela redução de produtividade, inseticidas foram aplicados para controlar as lagartas que naturalmente infestaram o experimento.



Três aplicações de inseticidas foram realizadas. Metomil foi aplicado no estágio V2/V3 (800 mL.ha<sup>-1</sup>); Spinosad foi aplicado no estágio V5/V6 (80 mL.ha<sup>-1</sup>); e Clorantraniliprole foi aplicado no estágio V10 (110 mL.ha<sup>-1</sup>). Estas aplicações foram feitas para controlar a infestação por larvas de *Spodoptera frugiperda* direcionadas a tratamentos convencionais.

Tabela 1. Dados de localizações geográficas, altitude em nível do mar, datas de plantio e datas de colheita do experimento de milho. Brasília-DF, 2015.

Locais	Latitude	Longitude	Altit. (m)	Plantio	Colheita
Brasília-DF	-15.84961	-47.49536	1053	01/11/14	11/04/15
São Sebastião-DF	-15.92563	-47.49558	1087	31/10/14	12/04/15
Taquara-DF	-15.67230	-47.42108	1093	06/11/14	13/04/15
Ipameri-GO	-17.25313	-47.90713	1172	11/11/14	14/04/15
Morrinhos-GO	-19.03788	-48.14105	758	09/11/14	15/04/15
Piracanjuba-GO	-17.55000	-48.94000	733	26/11/14	16/04/15
Uberlândia-MG	-14.44000	-48.73000	813	11/11/14	17/04/15
Araguari-MG	-18.66000	-48.78000	883	18/11/14	18/04/15

## 2.4. Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com duas repetições, quatro linhas de cinco metros por parcela, considerando-se como parcela útil apenas as duas linhas centrais. Foi utilizado o arranjo fatorial 5 x 3, cinco híbridos e três versões, conduzidos em oito fazendas comerciais produtoras de milho. O espaçamento entrelinhas foi de 0,75 m. Os plantios ocorreram mecanicamente com plantadeira a vácuo, regulada para semeadura de 30 sementes a cada cinco metros. As parcelas foram desbastadas quando as plantas estavam no estágio vegetativo V4 (quatro folhas desenvolvidas), mantendo-se 23 plantas em cada linha e um corredor de 0,7 metros,

distinguindo-se as parcelas no sentido de plantio. A população para todo o ensaio foi mantida após o desbaste com aproximadamente 65.000 plantas por hectare.

## **2.5. Características mensuradas**

Foi realizada avaliação de produtividade de grãos na parcela e estimado em kg ha<sup>-1</sup>. A colheita ocorreu em área útil de 7,5 m<sup>2</sup>, mecanicamente, utilizando-se colhedora específica de experimentos de quatro linhas. Os dados de produção foram armazenados em computador de bordo, assim como os dados de umidade dos grãos no ato da colheita. Para estimativa de produção por parcela, a umidade foi padronizada em 14%.

## **2.6. Análise estatística**

Utilizou-se a Metodologia de Modelos Mistos para obtenção da Melhor Predição Linear não Viesada (BLUP) dos efeitos genotípicos e o processo da Máxima Verossimilhança Restrita (REML) para a estimativa dos componentes de variância e dos parâmetros genotípicos. Foram utilizados como testemunhas três híbridos 30F53H, P3646H e P3862H, ambos comerciais e recomendados para plantio de verão nas regiões do estudo, os quais possuem maturidades diferentes.

Estes métodos possibilitam a análise conjunta de diferentes experimentos e os dados foram balanceados baseados nos tratamentos testemunha dentro de cada local que estavam dispostos em diagonal dentro de cada ensaio. Os dados de colheita, depois de extrapolados para kg.ha<sup>-1</sup>, foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa ASReml. Tal metodologia de análise possibilita a avaliação de ensaios de experimentos desbalanceados e pode ser utilizada tanto para plantas alógamas, quanto autógammas e com sistema reprodutivo misto (GARCIA e NOGUEIRA, 2005; RESENDE, 2016).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Rendimento de grãos

Na tabela 2 verifica-se que não há diferenças no desempenho relacionado à presença ou ausência da tecnologia Bt entre os 15 tipos de híbridos de milho (5 híbridos x 3 versões - não GM, convencional ou contendo os eventos transgênicos TC1507 (H) ou TC1507 + MON810 (YH) genes). A classificação de rendimento de produtividade de grãos dos híbridos testados, não tende a formar grupos devido a presença de eventos transgênicos ou de híbridos convencionais.

Tabela 2. Classificação de híbridos de milho convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) em relação ao desempenho de produtividade de grãos obtidos pelo  $\mu$ , Melhor Predição Linear. Brasília-DF, 2015.

Classificação	Híbridos	Versões	$\mu$ (BLUP-kg.ha <sup>-1</sup> )	**Diferença (%)
1º	HP2251H	H	11497	
2º	HP2251C	*C	11440	-0.5
3º	HP6490H	H	11367	-0.6
4º	HP2251YH	YH	11326	-0.4
5º	HP5253YH	YH	11218	-1.0
6º	HP5253C	*C	11164	-0.5
7º	HP6490YH	YH	11118	-0.4
8º	HP8761C	*C	11081	-0.3
9º	HP0297YH	YH	10759	-2.9
10º	HP5253H	H	10749	-0.1
11º	HP0297C	*C	10659	-0.8
12º	HP8761H	H	10587	-0.7
13º	HP8761YH	YH	10328	-2.4
14º	HP0297H	H	10218	-1.1
15º	HP6490C	*C	9706	-5.0

\* - Versão convencional não transgênica.

\*\* - diferença percentual (%) do segundo colocado para o primeiro, terceiro para o segundo e assim sucessivamente.

Em relação ao desempenho entre os híbridos estudados, houve uma diferença de desempenho relevante quando se considera a média de produtividade das três versões de cada híbrido, sendo que o HP2251 foi o mais produtivo (11.421 kg ha<sup>-1</sup>) e o HP0291 foi o menos produtivo (10545 kg ha<sup>-1</sup>) apresentando um decréscimo de 7,8 % em produtividade em relação ao HP2251 (Tabela 3). Estes dados indicam que o desempenho destes híbridos de milho, independente da tecnologia agregada, proporcionou diferenças de rendimento de grãos, devido à adaptabilidade destes materiais genéticos na região Centro-Oeste do Brasil e não necessariamente a inserção de genes de tecnologia Bt.

Tabela 3. Classificação dos híbridos de milho em relação ao desempenho de produtividade obtida pela média dos  $\mu$  (BLUPs) entre as versões convencional, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) Brasília-DF, 2015.

Classificação	Híbrido	$\mu$ *(BLUP-kg.ha <sup>-1</sup> )	**Diferença (%)
1º	HP2251	11421	
2º	HP5253	11044	-3.3
3º	HP6490	10730	-2,8
4º	HP8761	10665	-0,6
5º	HP0297	10545	-1,1

\* - Médias de produtividade entre versões Convencional, H e YH;

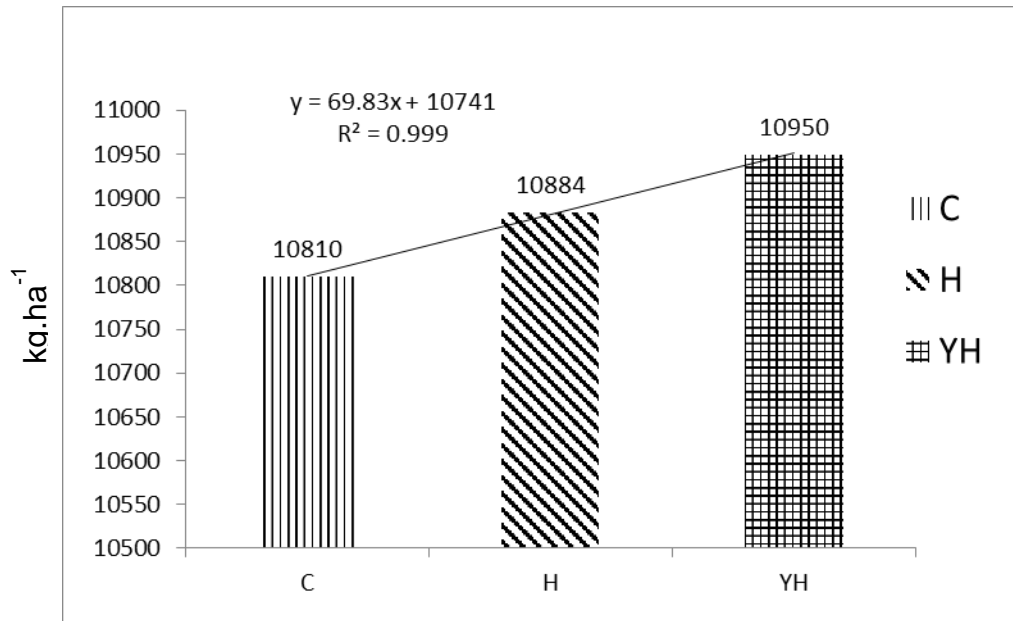
\*\* - diferença percentual (%) do segundo colocado para o primeiro, terceiro para o segundo e assim sucessivamente.

### 3.2. Rendimento de grãos entre híbridos transgênicos e não transgênicos

Houve um incremento de 1,29 % de produtividade das versões YH em relação às versões convencionais, e de 0,61 % em relação às versões H quando se considera as médias de produtividade dos cinco híbridos em conjunto. Portanto, a inserção dos eventos H e YH não interferiu na produtividade dos híbridos quando analisados em conjunto (Figura 1).

Bortoloto e Silva (2009), não encontraram diferenças entre os híbridos 30F80Y e 30K75Y com a tecnologia YH e os híbridos convencionais 30F80 e 30K75 quanto à produtividade e outros caracteres agronômicos.

Moraes et al. (2015) verificaram também que a maioria dos genótipos de milho testados, na versão convencional e seus isogênicos, não diferiram quanto à produtividade de grãos.



Híbridos convencionais e transgênicos

Figura 2. Média de produtividade (kg.ha<sup>-1</sup>) de híbridos de milho convencionais, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) em relação ao desempenho de produtividade obtidos pela Melhor Predição Linear não Viesada ( $\mu$  - BLUP) analisados pelo programa estatístico ASReml. Brasília-DF, 2015.

Adicionalmente, os resultados do trabalho de Holland e Goodman (2003) demonstraram que o uso da tecnologia Bt não resultou em incremento de produtividade, uma vez que não foi verificada diferença entre os genótipos convencionais e os isogênicos transgênicos.

Na Tabela 4 estão apresentadas as produtividades dos cinco híbridos em cada versão. No híbrido HP0297, a maior produtividade obtida foi a da versão HP0297YH. Já a versão HP0297H produziu 4,14% menos que a versão convencional HP0297C. O mesmo ocorreu para o híbrido HP5253, em que a versão HP5253H produziu 3,72% menos que a versão convencional HP5253C. Já a versão HP5253YH produziu 0,48% a mais que a versão convencional HP5253C. No híbrido HP2251, as diferenças foram irrelevantes, sendo que tanto as versões H como YH apresentaram produtividades próximas à versão convencional.

Quando cada híbrido é estudado individualmente, há discrepâncias nas diferenças de produtividade entre as versões (Tabela 4). Isto indica que possivelmente haja interação genótipo/genes de proteínas Bt.

Tabela 4. Diferenças percentuais de desempenho em rendimento de cinco híbridos de milho obtidas pela predição de  $\mu$  (BLUPs) entre as versões convencional, transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH) Brasília-DF, 2015.

Híbrido	Versão	$\mu$ (BLUP-kg.ha-1)	*H x C	**YH x C
HP0297	HP0297C	10659		
HP0297	HP0297H	10218	- 4,1	
HP0297	HP0297YH	10759		0,9
HP5253	HP5253C	11440		
HP5253	HP5253H	11497	- 3,7	
HP5253	HP5253YH	11326		0,5
HP2251	HP2251C	11164		
HP2251	HP2251H	10749	0,5	
HP2251	HP2251YH	11218		- 1,0
HP6490	HP6490C	9706		
HP6490	HP6490H	11367	17,1	
HP6490	HP6490YH	11118		14,5
HP8761	HP8761C	11081		
HP8761	HP8761H	10587	- 4,4	
HP8761	HP8761YH	10328		- 6,8

\* - diferença percentual (%) entre versões H e C

\*\* - diferença percentual (%) entre versões YH e C

Farinelli e Cerveira Júnior (2014) também detectaram acréscimo de produtividade de grãos do híbrido AG8088 VTPRO, transgênico com duas proteínas Bt resistentes a *S. frugiperda*, em comparação ao AG 8088 convencional, quando aumentou a densidade de plantas por área. Já Lourenção e Fernandes (2013) testaram a eficácia de híbridos Bt Cry1Ab e Cry1F sobre *S. frugiperda*, bem como o desempenho destes com suas

isolinhas convencionais, obtendo em alguns casos produtividades superiores com as versões transgênicas e, em outros casos, não observaram diferenças.

No híbrido HP6490, houve um incremento de produtividade em suas versões transgênicas quando comparadas à versão convencional HP6490C. A versão HP6490H produziu 17,1% a mais que a versão convencional, e a versão HP6490YH, 14,5% a mais que a versão HP6490H. É importante considerar que a diferença de 2,1% entre as versões H e YH não é limitante para a utilização das duas fontes de resistência a *S. frugiperda* em relação a rendimento. Quanto ao híbrido HP8761, às duas versões transgênicas proporcionaram produções inferiores à versão convencional, com decréscimos de 4,5% (H) e 6,8% (YH), comprometendo a futura inserção destas versões no mercado por não serem competitivas com a versão convencional em termos de rendimento (Tabela 4).



#### **4. CONCLUSÕES**

Eventos transgênicos TC1507 e TC1507 + MON810 não foram responsáveis exclusivamente no incremento do rendimento, indicando interação específica entre genótipos e eventos Bt, influenciando na produtividade de grãos de milho.

É fundamental, para cada híbrido, validar toda e qualquer nova versão a ser lançada comercialmente quanto à produtividade e seus respectivos desempenhos agronômicos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, S. R.; OKUMA, D. M.; SALMERON, E.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C. L.; BURD, T.; OMOTO, C. Frequency of resistance to Vip3Aa20 toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 76, p. 7-14, 2015.

BORTOLOTO, V., SILVA, T.R.B. Avaliação do desenvolvimento de milho convencional e milho Bt. **Cultivando o saber**. Cascavel, v. 2, n. 3, p. 89-95, 2009.

BOULDER, D. Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 34, p. 1453-1466, 1993.

BUNTIN, G. D.; BUNTIN, G. D.; LEE, R. D.; WILSON, D. M.; MCPHERSON, R. M. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidade) on corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, n. 1, p. 37-42, 2001.

BUNTIN, G. D. Corn expressing CRY1AB or CRY1F endotoxin for fall armworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidade) management in field corn for grain production. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 91, n. 4, p. 523-530, 2008.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de Safras Brasileiras. 3º Levantamento de safra 2017/18 - grãos: Disponível em: <  
[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18\\_01\\_11\\_14\\_14\\_35\\_dezembro.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_01_11_14_14_35_dezembro.pdf) >. Acesso em: 29 dez. 2017.

CRUZ, I.; TURPIN, F.T.; Yield impact of larval of the Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Midwhorl Growth Stage of Corn. **Journal of Economic Entomology**, Indiana, v.76, p. 1052-1054, 1983.

CRUZ, I. **A lagarta do cartucho do milho**. Circular Técnica, 21, Sete Lagoas: EMPRAPA Milho e Sorgo, 1995. 45 p.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; DOS SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved to CRY1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 64, p. 150-158, 2014.

FARINELLI, R.; CEVEIRA JUNIOR, W.R. Resposta de cultivares de milho transgênico e convencional a densidade populacionais. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. Sete Lagoas, v. 13, n. 3, p. 336-346, 2014.

FIGUEIREDO, M. D. L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P., CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p.1693-1698, 2006.

GARCIA, C.H.; NOGUEIRA, M.C.S. Utilização de metodologia REML/BLUP na seleção de clones de eucalipto. **Scientia Forestalis**, Botucatu, n. 68, p.107-112, 2005.

HOLLAND, J.B., GOODMAN, M.M. Combining ability of a tropical derived maize population with isogenic Bt and conventional testers. *Maydica*, v. 48, p.1-8, 2003.

INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRI-BIOTECH APPLICATIONS (ISAAA). **GM Crop Events approved in Brazil**; Disponível em:< <http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/approvedeventsin/default.asp?CountryID=BR>>. Acesso em: 30 nov.2015.

LOURENÇÃO, A.L.F.; FERNANDES, M.G. Avaliação do milho Bt Cry1Ab e Cry1F no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidade) em condições de campo. **Científica**, Jaboticabal, v. 41, n. 2, p. 164-188, 2013.

MORAES, A. R. A. D.; LOURENÇÃO, A. L.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Resistance of conventional and isogenic transgenic maize hybrids to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 1, p.50-57, 2015.

RESENDE, M.D.V. **Software Selegen – REML/BLUP**. Documentos 77, Colombo: Embrapa Florestas, n. 77, 67 p. 2002.

SIEBERT, M.W.K.V.; TINDALL, K. V.; LEONARD, B. R.; VAN DUYN, J. W.; BABCOCK, J. M. Evaluation of corn hybrids expressing Cry1F (Herculex I insect protection) against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the southern United States. **Journal of Entomological Science**. Helen, v. 43, n. 1, p. 41–51, 2008.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **DATA & ANALYSIS:** Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/regions/brazil>> Acesso em 29 nov. 2015.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Santa Maria, v.1, n.3, p.1-11, 2002.

WERLE, A. J. K.; NICOLAY, R. J.; SANTOS, R. F.; BORSOI, A.; SECCO, D. Evaluation of maize hybrids conventional and transgenic (Bt), with different insecticide application, on second-crop. **Applied Technology for Agricultural Science**. Guarapuava, v. 4, n.1, p. 149-166, 2011.

**CAPÍTULO 2. PARÂMETROS AGRÔNOMICOS E CARACTERÍSTICAS  
MORFOAGRONÔMICAS DE HÍBRIDOS DE MILHO GENETICAMENTE  
MODIFICADOS COMPARADOS A HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAIS**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento de quinze híbridos pré-comerciais de milho, seus desempenhos agrônômicos referentes à produtividade de grãos e avaliar os componentes diretos de produtividade, bem como suas características morfoagronômicas no Centro-Oeste do Brasil, em lavouras de terras altas. Para tal, foram instalados dois experimentos nos municípios de Formosa-GO e Planaltina-DF no ano safra 2016/17, ambos constituídos por cinco plataformas de híbridos pré-comerciais de milho HPA252, HPB262, HPB621, HPB646 e HPD354. Cada plataforma foi constituída por três diferentes versões, convencional (C), transgênica com um gene Bt que expressa a proteína Cry1F (H) e transgênica com dois genes Bt que expressam as proteínas Cry1F e Cry1AB (YH). O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados com quatro repetições. A parcela experimental constituiu-se por quatro linhas de 5 metros, considerando-se úteis as duas linhas centrais. Estas, foram espaçadas de 0,75 metros e a densidade final foi de 5 plantas por metro linear. Para estimativa de produção de grãos, as parcelas foram colhidas e o peso foi extrapolado para  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  e a umidade foi padronizada em 14%. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5%, utilizando-se o software Sisvar na avaliação. O rendimento de grãos entre os tratamentos variou entre 8.381 e 12.908  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  e a produtividade média foi de 11.234  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Os parâmetros avaliados foram divididos em dois grupos. Um com os parâmetros determinadores de produtividade de grãos, profundidade de grãos (PG), peso de mil grãos (P1000), número de fileiras de grãos (NF), número de grãos por fileira (NG) e produtividade de grãos (PD) e outro grupo dos parâmetros morfoagronômicos que interferem diretamente na resistência ao acamamento e quebraimento de plantas, altura de plantas (AP), altura de inserção de espiga (AE) e diâmetro médio de colmo (DC). Não houve efeito direto dos transgenes nos híbridos avaliados, pois a classificação de produtividade não ficou dividida nas classes de convencional e transgênico. Sugere-se que as versões HPA252YH, HP621H e HP646H sejam descartadas, pois o desempenho de rendimento de grãos, quando comparados às suas respectivas contrapartes convencionais e transgênicas, foram insatisfatória. Os parâmetros PG e P1000 mostraram-se mais efetivos para estimação de produtividade de grãos que NF e NG. Observou-se em HP621H, que além de menor produtividade de grãos, houve uma redução significativa do diâmetro de colmo, indicando uma possível redução da tolerância ao acamamento e/ou quebraimento de plantas quando exposta a condições climáticas adversas como vendavais. Para a versão HPD354H, indica-se preferencialmente o lançamento da contraparte transgênica HPD354YH, pois a versão H teve uma redução significativa do diâmetro de colmo e também uma possível maior tolerância ao acamamento e/ou quebraimento de plantas nas mesmas condições.

**Palavras-chave:** *Spodoptera frugiperda*, eventos transgênicos, rendimento, acamamento, *Zea mays*

## ABSTRACT

The aim of this work was to study the behavior of the fifteen pre-commercial maize, their agronomic affinities with grain yield and to evaluate the direct productivity components, as well as their phenotypic characteristics in the central-west of Brazil, in high lands. For that, two experiments were installed in the municipalities of Formosa-GO and Planaltina-DF in the 2016/17 crop season, both of which consisted of five pre-commercial hybrids platforms HPA252, HPB262, HPB621, HPB646 and HPD354. Each platform was constituted by three different versions, conventional (C), transgenic with a Bt gene that expresses the protein Cry1F (H) and transgenic with two Bt genes that express the proteins Cry1F and Cry1AB (YH). The experimental design was a randomized block design with four replications. The experimental plot consisted of four rows of 5 meters, considering the two central rows to be useful. These were spaced 0.75 meters and the final density was 5 plants per linear meter. To estimate grain yield, plots were harvested and weight was extrapolated to  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  and moisture was standardized at 14%. The data were submitted to analysis of variance and the averages were compared by the Tukey test at 5%, using the Sisvar software in the evaluation. Grain yield between treatments varied between 8.381 and 12.908  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  and the average yield was 11.234  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . The parameters evaluated were divided into two groups. One with the determinants of grain yield, grain depth (PG), weight of a thousand grains (P1000), number of rows (NF), number of grains per row (NG) and grain yield (PD) and another group of morphoagronomic parameters that directly interfere in the resistance to lodging and breaking of plants, plant height (AP), ear insertion height (AE) and mean stem diameter (DC). There was no direct effect of the transgenic genes on the evaluated hybrids, since the classification of productivity was not divided into the conventional and transgenic classes. It is suggested that HPA252YH, HP621H and HP646H versions are discarded because the grain yield performance when compared to their respective conventional and transgenic counterparts was unsatisfactory. The parameters PG and P1000 were more effective for estimation of grain yields than NF and NG. It was observed in HP621H, in addition to lower grain yields, there was a significant reduction of stem diameter, indicating a possible reduction in lodging tolerance and/or plant growth when exposed to adverse climatic conditions such as wind. For the HPD354H version, the release of the transgenic counterpart HPD354YH is preferentially indicated, since the H version had a significant reduction of the stalk diameter and a possible greater tolerance to lodging an/or breaking of plants under the same conditions.

**Keywords:** *Spodoptera frugiperda*, transgenic events, yield performance, lodging, *Zea mays*

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos que visam estudar a eficácia de eventos transgênicos de milho que controlam *Spodoptera frugiperda* surgem, frequentemente, à medida que novo evento transgênico é estudado e/ou liberado comercialmente, tanto no Brasil como em outros países da América do Sul. Estes estudos visam avaliar os efeitos de proteínas Bt no controle da larva, controle genético de plantas transgênicas e monitoramento e eficiência ou não de Bt (FERNANDES et al. 2010; MENDES et al. 2011).

Nos últimos anos, vários pesquisadores têm publicado trabalhos no Brasil e no mundo referente a este tema. Logo após a liberação comercial do primeiro evento Bt transgênico que confere resistência à lagarta-do-cartucho, Fernandes et al. (2010) avaliaram o efeito do milho MON810, que expressa a toxina Cry1Ab, em *S. frugiperda*, sob condições de campo e com infestação natural da praga, nas safras de 1999/2000 e 2000/2001. O milho MON810 reduziu significativamente a infestação de lagartas de *S. frugiperda* e consequentes danos às plantas, em comparação com o milho convencional. Eles concluíram que o milho MON810 foi efetivo na proteção da cultura em relação às infestações e danos de *S. frugiperda*. Araújo et al. (2012) observaram que o híbrido de milho transgênico P3041YG apresentou menor dano causado por *S. frugiperda*, maior massa de grãos por espiga e maior rendimento de grãos em relação ao híbrido convencional.

Waquil et al. (2014) avaliaram a eficácia do evento piramidado (MON 89034), que expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, no controle de *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa* spp. e *Diatraea saccharalis* e concluíram que o evento piramidado foi eficaz no controle destes lepidópteros-praga na cultura do milho.

Bedin et al. (2015) estudaram a eficácia dos híbridos de milho CD316 (convencional); CD316 Herculex; CD316 PRO2; CD384 (convencional); CD384 Herculex; CD384



Powercore. Constataram melhores resultados para controle de *Spodoptera frugiperda* nos híbridos CD316 PRO2 e CD384 Powercore. Determinaram que o híbrido CD384 Herculex não foi eficaz ao ataque de *Spodoptera frugiperda*.

Quando a eficácia de um evento transgênico contra uma praga que causa impacto econômico é comprovada, estes são inseridos no genoma das linhagens dos programas de melhoramento em larga escala. Na cultura do milho, uma forma de introgressão dos transgenes é o método de retrocruzamento, que consiste no cruzamento da linhagem a ser convertida com uma linhagem doadora, contendo um ou mais transgenes de resistência ao inseto-alvo. Posteriormente é feito retrocruzamentos desta população F<sub>1</sub> com a linhagem recorrente com o intuito da recuperação do genoma original da linhagem sendo convertida (MUMM et al., 2007; PEREIRA et al., 2008; CARNEIRO et al., 2009). Este processo comumente chamado de conversões de linhagens convencionais em transgênicas deve ser o mais rápido e eficiente em termos de custos. Desta forma, as linhagens são avançadas no programa com tecnologia e isto garante além do incremento do ganho genético, também a praticidade da resistência às pragas, sendo assim, o pacote completo que o mercado necessita (STEWART et al., 2003).

Para atender o lançamento de novos híbridos transgênicos em tempo hábil, os programas de melhoramento genético iniciam as conversões via retrocruzamento, utilizando marcadores moleculares para monitoramento da manutenção dos transgenes e verificação da recuperação genômica do parental recorrente, em etapas iniciais, onde o número de linhagens pode ser bastante elevado. Desta forma garante-se que as linhagens que serão selecionadas nas etapas finais do programa, estejam convertidas e prontas para serem lançadas. Por outro lado, o número de linhagens nesta fase do programa é extremamente elevado e os gastos com as conversões são diretamente proporcionais ao número de linhagens em conversão. Outro fator que deve ser levado em consideração, é que a análise molecular não substitui a seleção fenotípica para a

obtenção de genótipos com alta produtividade de grãos. Isto porque a produtividade de grãos é uma característica quantitativa e, portanto poligênica, muito influenciada pelas condições ambientais (TEIXEIRA et al., 2013).

Os efeitos genéticos que ocorrem nas linhagens quando estes eventos são inseridos no genoma da planta podem ser transferidos para os híbridos que são compostos por estas. Conseqüentemente, alguns efeitos adversos raros podem interferir negativamente com a manutenção de alelos indesejáveis (GUERRA et al., 2001). Além das exigências legais, pouco se estuda a respeito de comparações de características agronômicas que interferem diretamente o rendimento de grãos, e outros caracteres morfoagronômicos como tolerância aos aspectos bióticos e abióticos, quando um evento é inserido em uma linhagem ou no híbrido. É importante ressaltar que apenas híbridos portadores de genes de interesses, sejam transgenes ou não, só serão recomendados como híbrido comercial, se apresentarem fortes atributos tecnológicos e patamares de produtividade mantidos ou superiores aos já existentes no comércio. Portanto, estudos que visam determinar a interferência genética de eventos transgênicos na produtividade, bem como as características morfoagronômicas que influenciam no rendimento, são de grande relevância para a sociedade e para a pesquisa.

## **2. OBJETIVOS**

- Determinação os parâmetros fenotípicos que influenciam na produtividade de grãos, comparando híbridos de milho geneticamente modificados com híbridos de milho convencionais;

- Detecção de variações de produtividade devido a inserção de evento transgênico único ou duplo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1. Descrição dos híbridos

Utilizou-se neste estudo híbridos pré-comerciais de milho recomendados para a região centro-norte do Brasil, denominados HPA252, HPB262, HPB621, HPB646 e HPD354. Estes híbridos estão em desenvolvimento para serem lançados no mercado com alto potencial produtivo, desde que seja empregado alto nível tecnológico na condução da cultura.

Os híbridos de milho apresentam diferentes ciclos de maturidade fisiológica. Todos eles estão sendo desenvolvidos para cultivos na época de verão. Híbridos de ciclo super-precoce (HPB646 e HPB621), precoce (HPB262 e HPA252) e ciclo normal (HPA252) e todos eles estão descritos com dupla aptidão, tanto para produção de grãos quanto para produção de silagem.

Por se tratarem de híbridos que estão sendo desenvolvidos para região Centro-Oeste do Brasil, estes deverão ser bem adaptados para áreas com altitude superior a 800 metros em relação ao nível médio do mar. Porém alguns destes híbridos alcançaram excelentes resultados de rendimento de grãos também em áreas com baixa altitude, como HPB262, HPB646 e HPD354. Outro fator muito importante é a tolerância às doenças, pois nesta região do Brasil o inverno não atinge baixas temperaturas e durante o verão, as temperaturas são muito elevadas e com altos índices de pluviosidade. Alguns destes produtos se destacam por tolerarem a ferrugem polísora (*Puccinia polysora*) como os híbridos HPA252 e HPB262. Com relação à mancha de turcicum (*Exserohilum turcicum*), outra doença foliar fúngica que é comum causar epidemias nesta região, todos os produtos com exceção do HPA252, apresentam boa ou ótima tolerância. Com relação à tolerância a mancha-branca ou mancha-de-phaeosphaeria, doença foliar bacteriana causada pela infecção de *Pantoea ananatis*, muito agressiva em regiões acima de 700

metros de altitude, os híbridos HPA252, HPB262 e HPD354 são tolerantes, o híbrido HPB621 é moderadamente tolerante e o híbrido HPB621 é susceptível.

Além destas doenças foliares, a tolerância ao complexo de viroses e mollicutes atualmente requer atenção especial. Os híbridos deste estudo possuem boa tolerância a este complexo, com exceção do HP621. Este híbrido apesar de ser susceptível a duas doenças importantes, sua abrangência em diferentes áreas com bons resultados em produtividade de grãos e adaptabilidade é extremamente favorável. Além disso, tem excelente qualidade de grãos, característica altamente desejável que influencia diretamente o rendimento, todos os híbridos avaliados são altamente tolerantes aos fungos fitopatogênicos de grãos como giberella, diplodia e fusarium.

Todos eles apresentam uma excelente qualidade de grãos. O híbrido HPD354 especificamente, apresenta o melhor espectro de tolerância às doenças citadas, a outros fatores relevantes como ótima tolerância a colheitas tardias, e alta tolerância a quebraamento e acamamento.

## **2.2. Tratamentos**

Os tratamentos foram compostos por cinco híbridos de milho HPA252, HPB262, HPB621, HPB646 e HPD354. Cada híbrido estava composto por três diferentes versões. Uma delas não geneticamente modificada, convencional (C), uma versão com o um evento transgênico TC1507 que expressa a proteína Cry 1F (H) e outra versão transgênica que continha dois eventos MON810 e TC1507 que expressam duas proteínas Bt, Cry 1Ab e Cry 1F (YH). Estes eventos conferem resistência a alguns insetos-praga da cultura do milho, o principal deles é a resistência à lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*), praga que causa maior dano econômico à cultura.

O intuito de estudar três versões de cada híbrido e comparar dentro de cada versão o mesmo híbrido, diferenciando-se apenas pela inserção dos eventos transgênicos é a

detecção de diferenças morfológicas e/ou agronômicas que interferem em parâmetros determinantes de rendimento de grãos. Desta forma, foram utilizados 15 tratamentos, sendo que as análises contemplaram ou cada uma dos cinco híbridos ou o conjunto de cinco híbridos desde que estivessem classificados como a mesma versão referente a presença ou ausência de transgenes.

### **2.3. Descrição da área experimental**

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2016/17 em duas fazendas comerciais de milho. Uma delas localizada em Planaltina-DF, e outro no município de Formosa-GO, sendo que uma delas está localizada em uma área com altitude de 1050 metros acima do nível médio do mar e a outra localizada em uma área com altitude de 970 metros acima do nível médio do mar, respectivamente.

As duas propriedades possuem um histórico de cultivo agrícola de mais de vinte anos, ambas possuem em sua maioria latossolos vermelho-amarelo distrófico e a pluviosidade média anual (safra) dependendo do ano estão entre 950 e 1200 milímetros. Apesar da pequena distância geográfica entre elas, aproximadamente 50 quilômetros, a fazenda localizada em Planaltina está focada na produção de soja, milho e feijão. Já a fazenda de Formosa, além de soja, milho e feijão, cultiva hortaliças como batata, alho e cenoura. Na cultura do milho é comum a incidência de várias doenças foliares, e o complexo de viroses causarem epidemias com níveis variáveis de severidade. Outro fator variável entre as fazendas é a ocorrência de tempestades e vendavais, muito favoráveis para avaliações de qualidade de colmo e raiz, fatores importantes para determinação de tolerância a acamamento e quebramento.

## 2.4. Delineamento experimental

O plantio dos experimentos foi realizado mecanicamente com plantadeira experimental de linhas individuais, diretamente na palhada de lavoura comercial de soja. As parcelas experimentais foram compostas de quatro linhas de 4,3 metros de comprimento e entre elas no sentido de plantio foram separadas por corredores de 0,7 metros. O espaçamento entrelinhas foi de 0,75 metros e as parcelas foram desbastadas quando as plantas estavam no estágio vegetativo V4 (quatro folhas desenvolvidas), mantendo-se 25 plantas a população final de plantas foi 66 mil plantas por hectare. Para coleta de dados, considerou-se apenas as duas linhas centrais de cada parcela.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições. Foi utilizado o arranjo fatorial 5 x 3, sendo 5 híbridos e 3 versões. Foram feitas quatro aplicações de inseticidas. Em V2/V3 foi aplicado Metomil ( $800 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), em V5/V6 foi aplicado Espinosade – ( $80 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e em V10 foi aplicado Clorantraniliprole ( $110 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e em pré-florescimento foi aplicado novamente Espinosade – ( $80 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Estas aplicações foram feitas com o intuito de controlar infestação por larvas de *Spodoptera frugiperda* direcionadas aos tratamentos convencionais e também para que estas larvas não reduzissem o estande final de plantas. Duas aplicações de fungicidas foram feitas com o intuito de prevenir a infecção de doenças foliares fúngicas. A primeira ocorreu no período de pré-florescimento, aplicado a mistura Picoxistrobina + Ciproconazol ( $400 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e a segunda em pós-florescimento, vinte dias após a primeira aplicação, foi aplicado Tebuconazole ( $1000 \text{ mL}\cdot\text{ha}^{-1}$ ).

Todo este manejo com inseticidas e fungicidas foram efetuados para reduzir o efeito de redução de rendimento de grãos devido ao ataque de pragas. Desta forma, foi possível reduzir drasticamente o erro experimental e determinar os efeitos genéticos das inserções de transgenes, não na eficácia de controle e sim no rendimento de grãos.

## 2.5. Características morfoagronômicas mensuradas

Foram avaliados diferentes parâmetros agronômicos diretamente ligados ao rendimento de grãos e também características morfológicas determinantes para resistência ao quebramento e acamamento de plantas. As avaliações foram feitas após o período de florescimento pleno, quando o estágio vegetativo foi finalizado, após ter iniciado os estádios reprodutivos.

- Altura de plantas (PLTHT/polegadas/in), onde 4 plantas aleatórias foram medidas de cada parcela experimental, constituindo uma amostra composta e a média foi considerada uma repetição por tratamento;

- Altura de inserção de espigas (EARHT/polegadas/in), onde 4 espigas aleatórias foram medidas de cada parcela experimental, onde constituíram uma amostra composta e a média foi considerada uma repetição por tratamento;

Os parâmetros agronômicos avaliados foram:

- Número de fileiras por espiga (NF), onde foi quantificado o número de fileiras de 10 espigas de plantas aleatórias dentro de cada parcela constituíram uma amostra composta e a média foi considerada uma repetição por tratamento;

- Número de grãos por fileira (NGF), onde uma fileira de grãos foi quantificada de 10 espigas de plantas aleatórias dentro de cada parcela constituíram uma amostra composta e a média foi considerada uma repetição por tratamento;

- Profundidade de grãos (PG em milímetros), onde 10 espigas de plantas aleatórias dentro de cada parcela constituíram uma amostra composta e a média foram consideradas uma repetição por tratamento. Para obtenção dos dados de profundidades médias de grãos, foi quantificado o diâmetro de espigas e também o diâmetro dos sabugos após a debulha e os valores da subtração do diâmetro das espigas menos os valores do diâmetro dos sabugos foi possível extrapolar para a profundidade de grãos.



- Diâmetro de colmo (DC em milímetros), onde 10 colmos de plantas aleatórias de cada parcela experimental, onde constituíram uma amostra composta e a média foram consideradas uma repetição por tratamento;

- Diâmetro de espigas (DE em milímetros), onde 10 espigas de plantas aleatórias dentro de cada parcela constituíram uma amostra composta e a média foram consideradas uma repetição por tratamento;

- Diâmetro de sabugo (DS em milímetros), onde 10 espigas de plantas aleatórias dentro de cada parcela constituíram uma amostra composta e a média foram consideradas uma repetição por tratamento;

- Peso de 1000 grãos (P1000), fórmula baseada no peso de mil sementes, foram utilizadas 8 sub-amostras de 100 sementes, de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

- Produtividade (PROD), baseada no peso da parcela colhida, umidade de grãos no ato da colheita e extrapolação para  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  com uma umidade ajustada para 14%. A colheita ocorreu em área útil de  $7,5 \text{ m}^2$ , mecanicamente, utilizando-se colhedora específica de experimentos de quatro linhas. Os dados de produção foram armazenados em computador de bordo, assim como os dados de umidade dos grãos no ato da colheita.

## **2.6. Análises estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011), pelo teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade para todas as características avaliadas.

Em sua grande maioria, os parâmetros determinadores de produtividade em um híbrido determinam diretamente o ganho genético e o incremento de produtividade. Para

tal, o estudo de associações entre caracteres é de grande importância no âmbito do melhoramento genético de plantas. Isto ocorre da mesma forma entre a comparação de linhagens ou híbridos com backgrounds genéticos distintos, ou até mesmo com os mesmos produtos com apenas diferenças entre inserção de eventos transgênicos em seu germoplasma.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença estatística significativa entre os dois experimentos conduzidos nos municípios de Planaltina-DF e Formosa-GO, desta forma foi possível analisar os dados oriundos das duas fazendas em conjunto. Diante dos resultados de produtividade de grãos, verificou-se que não houve agrupamento de híbridos contendo ou não genes transgênicos (Cry1F ou Cry1F+Cry1AB) na classificação entre o mais produtivo e o menos produtivo. Portanto, para determinação de efeitos da inserção de um ou dois genes transgênicos Bt, os tratamentos foram divididos em cinco plataformas, onde cada plataforma foi representada por três versões, diferenciando-se apenas pela presença de um (TC1507) ou dois (TC1507 + MON810) eventos transgênicos que expressam proteínas Bt que conferem resistência a larvas de *Spodoptera frugiperda*.

Os parâmetros avaliados foram divididos em dois grupos. Um deles com os parâmetros determinadores diretos de produtividade de grãos, profundidade de grãos (PG), peso de mil grãos (P1000), número de fileiras de grãos (NF), número de grãos por fileira (NG) e produtividade de grãos (PD) e outro grupo das características morfoagronômicas que interferem diretamente na resistência ao acamamento e quebramento de plantas, altura de plantas (AP), altura de inserção de espiga (AE) e diâmetro médio de colmo (DC). Sendo a produção de grãos resultado de herança quantitativa, muitos fatores afetam essa variável e sua correlação com uma única característica fenotípica geralmente é baixa, além disso, existe interação entre o evento Bt e o genótipo, afetando a resposta do inseto quanto à sobrevivência, biomassa das larvas, dano foliar e produtividade de grãos (WAQUIL, 2010).

### 3.1. Rendimento de grãos

O rendimento de grãos entre os tratamentos variou entre 8.381 e 12.908 kg.ha<sup>-1</sup> e a produtividade média foi de 11.234 kg.ha<sup>-1</sup>. Sendo que cinco entre os quinze tratamentos ultrapassaram 12.000 kg.ha<sup>-1</sup> (Tabela 1). Este patamar de produtividade corrobora com a realidade das lavouras comerciais de milho da região Centro-Oeste do Brasil de terras altas, acima de 800 metros de altitude em relação ao nível médio do mar. Alves et al. (2015) avaliaram a produtividade de 18 genótipos transgênicos e alcançaram em média 6.690 kg.ha<sup>-1</sup>. No ano anterior, Alves et al. (2014) conduziram um experimento comparando híbridos transgênicos e híbridos convencionais de ciclos precoces e superprecoces e obtiveram produtividades médias de 5.000 kg.ha<sup>-1</sup> e 5.920 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Ambos os ensaios foram conduzidos no estado do Rio Grande do Sul. SIMON et al. (2012) obtiveram melhores resultados de rendimento de grãos, testaram 19 híbridos simples de milho na região Centro-Oeste, cidade de Rio Verde-GO, em duas épocas. Na safra de verão 2007/2008 obtiveram produtividades entre 7.928 a 10.712 kg.ha<sup>-1</sup> e na safrinha de 2008 a produtividade variou entre 4.756 e 8.897 kg.ha<sup>-1</sup>.

Dentre os tratamentos avaliados o mais produtivo foi o híbrido HPB646, na versão convencional, que produziu 12.908,5 kg.ha<sup>-1</sup>. Este híbrido se diferenciou estatisticamente dos demais. Já o híbrido HPB621H foi o menos produtivo, atingindo 8.381,2 kg.ha<sup>-1</sup> de produtividade. Ele também se diferenciou estatisticamente dos demais. Para este híbrido especificamente, percebe-se que todas as suas três versões testadas neste ensaio foram as menos produtivas. Este fato evidencia o efeito de genótipos nestes ambientes como resposta a produtividade e não necessariamente a inserção de genes transgênicos em seu genoma. É importante ressaltar que a produtividade depende de fatores ligados à planta e de suas interações com as condições edafoclimáticas, o que faz com que varie sensivelmente de um local para outro (WAQUIL, 2014).

Tabela 1. Médias dos valores de produtividade de grãos de milho (PD) de 15 híbridos de milho convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016.

Híbridos	Versões	PD (kg.ha <sup>-1</sup> )
HPB646	C	12908,5 a
HPB262	C	12643,5 ab
HPA252H	H	12393,1 abc
HPB262YH	YH	12093,1 abcd
HPA252	C	12022,1 abcd
HPB646YH	YH	11969,6 abcd
HPB262H	H	11901,6 abcd
HPD354	C	11359,5 abcde
HPB646H	H	11253,2 abcde
HPD354YH	YH	10783,8 bcde
HPD354H	H	10780,7 bcde
HPA252YH	YH	10423,5 cdef
HPB621	C	10101,1 def
HPB621YH	YH	9508,1 ef
HPB621H	H	8381,2 f
Média		11234,8
CV (%)		10,71

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

### 3.2. Parâmetros agrônômicos determinadores de produtividade

Das cinco plataformas de híbridos de milho, em três delas houve diferenças estatísticas entre as versões (HPA252, HPB262 e HPB646) e duas delas foram estatisticamente iguais quanto à produtividade de grãos (HPB262 e HPD354) (Tabela 2). Entre 1994 e 2005, em universidades dos Estados Unidos e do Canadá foram conduzidos vários ensaios contendo genótipos de milho Bt comparado aos seus correspondentes convencionais e o rendimento dos Bt foram superiores (NOLAN e SANTOS, 2012).

Tabela 2. Média dos valores de produtividade de milho, profundidade de grãos (PG), peso de mil grãos (P1000), número de fileiras de grãos (NF), número de grãos por fileira (NG) e produtividade de grãos (PD) de cinco plataformas de híbridos de milho e três versões em cada plataforma, convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016.

Híbridos	PG (mm)	P1000 (g)	NF	GF	PD (kg.ha <sup>-1</sup> )
HPA252	25,33 a	360 a	13,77 b	39,70 a	12.022,12 a
HPA252H	24,92 ab	347 ab	13,40 ab	38,85 a	12.393,12 a
HPA252YH	23,68 b	338 b	14,20 a	38,78 a	10.423,50 b
Média	24,65	348,92	13,79	39,11	11.612,91
CV(%)	4,15	4,03	3,63	3,23	10,07
HPB262	24,55 a	314 a	16,92 a	35,87 b	12.643,50 a
HPB262H	24,35 a	309 a	16,62 a	37,65 a	11.901,62 a
HPB262YH	24,00 a	313 a	18,18 a	36,62 ab	12.093,12 a
Média	24,30	312,24	17,24	36,71	12.212,75
CV(%)	4,87	3,65	14,82	2,72	5,81
HPB621	24,08 ab	304 a	17,12 a	35,30 a	10.101,12 a
HPB621H	23,45 b	291 a	17,17 a	35,55 a	8.381,25 b
HPB621YH	24,50 a	299 a	17,92 a	36,93 a	9.508,12 a
Média	24,02	298,36	17,4	35,92	9.330,16
CV(%)	3,24	4,23	11,54	4,52	8,24
HPB646	24,68 a	300 a	17,20 a	38,17 a	12.908,50 a
HPB646H	24,07 ab	269 b	17,27 a	36,95 a	11.253,25 b
HPB646YH	23,22 b	289 a	16,77 a	37,55 a	11.969,62 ab
Média	23,99	286	17,08	37,55	12.043,79
CV(%)	4,25	4,49	3,25	4,02	8,29
HPD354	22,55 a	311 a	14,35 a	36,68 a	11.359,50 a
HPD354H	22,13 a	295 ab	15,55 a	33,82 b	10.780,75 a
HPD354YH	22,42 a	280 b	16,21 a	36,65 a	10.783,87 a
Média	22,37	295,71	15,03	35,72	10.974,70
CV(%)	3,75	7,02	17,36	3,16	5,84

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Embora os benefícios do uso de milho Bt possam ser substanciais na presença de pragas do milho (RICE e PILCHER, 2001), em experimentos de campo no sudeste dos Estados Unidos, sem que houvesse a presença da praga, não houve incremento de produtividade em genótipos transgênicos em comparação aos convencionais, quando plantados nas primeiras datas de plantio (DELAMAR et al., 1999; BUNTIN et al., 2004; REAY-JONES et al., 2009; REAY-JONES e WIATRAK 2011).

Posteriormente, em ensaios plantados 1 ou 2 meses mais tarde do que a data de plantio recomendada, o aumento no rendimento pode ser mais frequente com o milho Bt em comparação com os híbridos convencionais, devido à maior pressão da praga (BUNTIN et al., 2001). Com estas constatações, fica claro que os efeitos de incremento de rendimento dos híbridos transgênicos nestes estudos ocorreram pelo efeito da eficácia do evento, onde não houve controle da praga. O controle químico com inseticidas é necessário para controlar a praga, tanto nos tratamentos de híbridos Bt quanto convencionais para quantificar o impacto genético da presença de eventos transgênicos no rendimento de grãos (REAY-JONES, 2014) (Tabela 2).

As versões mais produtivas da plataforma HPA252 foram a H e a convencional com 12.393,12 e 12.022,12 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Diferente estatisticamente da versão YH, que produziu apenas 10.423,50 kg.ha<sup>-1</sup> (Tabela 1). Quando os parâmetros determinadores de produtividade foram comparados individualmente entre as versões dentro de cada plataforma, foi possível identificar quais foram os parâmetros responsáveis pela redução ou incremento de produtividade. Na plataforma HPA252, os parâmetros PG, P1000 da versão YH foram estatisticamente significativos e menores que as demais versões, GF não se diferiu estatisticamente, porém também foi menor. Portanto, mesmo que o número de fileiras em média foi maior, os outros parâmetros em conjunto influenciaram negativamente na produtividade de grãos da versão YH e

consequentemente reduziu a produtividade com aproximadamente 13% comparado a versão convencional e 16% menor que a versão H (Tabela 2).

As versões mais produtivas da plataforma HPB621 foram a convencional e YH 10.101,12 e 9.508,12 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Diferente estatisticamente da versão H, que produziu apenas 8.381,25 kg.ha<sup>-1</sup> (Tabela 2). Quanto aos parâmetros individualmente comparados, apenas a profundidade de grãos foi diferente estatisticamente, onde a versão YH foi a maior, que não se diferiu da versão convencional. Os demais parâmetros não se diferiram estatisticamente, mas numericamente a versão YH foi melhor em P1000, NF e GF que a versão H, além disso, a produtividade de grãos foi 11% maior que a versão H.

Quanto a plataforma HPB646, a versão convencional foi a mais produtiva com 12.908,50 kg.ha<sup>-1</sup>, que não se diferiu da YH com 11.969,62 kg.ha<sup>-1</sup>, e se diferiu versão H, menos produtiva, com 11.253,25 kg.ha<sup>-1</sup> (Tabela 1). A versão H desta plataforma não se diferiu da versão convencional nem da versão YH. Entre as duas versões transgênicas, a versão YH produziu aproximadamente 6% mais que a versão H. Nessa versão, o peso de mil grãos foi estatisticamente maior em 20 gramas e o número de grãos por fileira também foi maior, porém não significativamente. PG e NF foram menores na versão YH, porém não significativamente (Tabela 2).

SIMON et al. (2012) estudando divergência genética entre 19 híbridos de milho, determinaram diferentes parâmetros agronômicos e morfológicos e concluíram que as características que mais contribuíram para a explicação da divergência genética entre os híbridos estudados, tanto na safra quanto na safrinha foram o índice de área foliar, peso de mil grãos, produtividade de grãos, número de grãos por fileira e número de fileiras de grãos por espiga.

As plataformas HPB262 e HPD354 não apresentaram diferenças estatísticas em produtividade de grãos. Em ambas as produtividades maiores foram das versões



convencionais. Mas as diferenças entre as versões H e YH foram mínimas, menores que 2% (Tabela 1). Na plataforma HPB262, o único parâmetro em que houve diferença estatística significativa foi o número de grãos por fileira, entre a versão convencional e H, sendo que a versão H obteve maior número de GF. Na plataforma HPD354, PG e NF não houve diferenças estatísticas significativas. Para P1000 a versão H não se diferiu da versão YH, porém foi maior, já o número de grãos por fileira da versão H foi menor que a versão YH, ainda assim não interferiu para que as produtividades entre as versões fossem diferentes estatisticamente (Tabela 2).

### **3.3. Características morfológicas**

Dentre as plataformas avaliadas, não houve diferenças estatísticas significativas entre a altura de plantas (AP) e inserção de espigas (AE) que podem interferir na resistência ao acamamento ou quebramento de plantas. Segundo Demétrio et al. (2008), o aumento da densidade de plantas tende a elevar as chances de quebramento e, ou, acamamento. Sendo que ocorre diferenças entre genótipos. Tanto Sangoi et al. (2002) quanto Argenta et al. (2001) relataram que a altura das plantas aumenta de acordo com o adensamento populacional, devido à competição por luz. Consequente ocorre o estímulo da dominância apical das plantas, acelerando o crescimento na fase vegetativa.

Alguns estudos demonstraram resultados discrepantes, utilizando-se diferentes genótipos de milho. Von Pinho et al. (2008) determinaram que o aumento de 1.000 plantas na densidade haverá acréscimo de 0,20 m na altura das plantas, já Silva et al., (2008), relataram que o aumento de 10.000 plantas ha<sup>-1</sup> o acréscimo é de 0,03 m. Portanto, existe uma variação considerável em resposta do adensamento populacional relacionado à altura de plantas, variando dependendo do material genético (VALLE et al., 2013). Santos et al. (2002), detectaram correlação positiva e significativa entre

produtividade de grãos de milho, altura de plantas e inserção das espigas e alcançaram produtividade média de 7.071 kg.ha<sup>-1</sup> na região Centro-Oeste do Brasil.

Houve diferenças estatísticas significativas para a característica morfológica diâmetro de colmos (DC) nas plataformas HPB621 e HPD354. A versão YH da plataforma HPB621 obteve o maior diâmetro de colmo, seguido pela versão convencional e posteriormente pela versão H, com diâmetro menor. O mesmo ocorreu na plataforma HPD354, à versão YH obteve o maior diâmetro de colmo, seguido pela versão convencional e posteriormente pela versão H (Tabela 3).

Segundo Fancelli e Dourado Neto (2000), o colmo é uma estrutura de suma importância para planta, tanto como suporte físico para manter a planta em pé, quanto na produção de grãos, pois acumula sólidos solúveis que serão utilizados posteriormente no período de enchimento de grãos.

Tabela 3. Média dos valores de características morfológicas que influenciam o acamamento e quebramento de plantas de milho, altura de plantas (AP), altura de inserção de espiga (AE) e diâmetro médio de colmo (DC), de cinco plataformas de híbridos de milho e três versões em cada plataforma, convencionais (C), transgênicos contendo o evento TC1507 (H) e transgênicos contendo os eventos TC1507 + MON810 (YH). Brasília-DF, 2016.

<b>Híbridos</b>	<b>AP (cm)</b>	<b>AE (cm)</b>	<b>DC (mm)</b>
HPA252	275 a	156 a	27.42 a
HPA252H	276 a	155 a	27.47 a
HPA252YH	277 a	152 a	29.20 a
Media	276,14	154,58	28,03
CV(%)	3,27	4,93	5,46
HP262	268 a	150 a	25.72 a
HP262H	267 a	150 a	26.11 a
HP262YH	262 a	150 a	24.75 a
Media	266,04	150,20	25,52
CV(%)	1,85	4,09	6,77
HP621	255 a	144 a	27.81 ab
HP621H	259 a	144 a	26.42 b
HP621YH	259 a	142 a	28.63 a
Media	258,12	143,85	27,62
CV(%)	2,83	3,68	4,30
HP646	272 a	152 a	27.35 a
HP646H	274 a	150 a	27.52 a
HP646YH	278 a	149 a	27.32 a
Media	275,2	150,72	27,40
CV(%)	2,25	5,3	4,77
HPD354	262 a	145 a	28,66 ab
HPD354H	260 a	140 a	27,65 b
HPD354YH	265 a	143 a	29,60 a
Media	262,60	143,02	28,637
CV(%)	2,52	3,51	5,20

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

## 5. CONCLUSÕES

Os índices de produtividade de grãos de milho com patamares elevados para a região Centro-Oeste do Brasil de terras altas são independentes da tecnologia Bt utilizada ou até mesmo com a ausência dela.

Mesmo considerando o grande benefício do controle genético à *Spodoptera frugiperda* no milho, sugere-se o descarte das versões transgênicas dos híbridos pré-comerciais, HPA252YH, HP621H e HP646H. Tendo em vista que todas estas versões tiveram suas contrapartes transgênicas (HPA252H, HP621YH e HP646YH), estão validadas e com bom desempenho de rendimento de grãos, quando comparados às suas respectivas contrapartes convencionais.

Os parâmetros determinadores diretos de produtividade de grãos de milho, PG e P1000 mostraram-se mais efetivos para estimação de produtividade de grãos de milho que os parâmetros NF e NG que foram menos informativos.

A versão pré-comercial HP621H, além do menor rendimento em produtividade de grãos e apresentou um menor diâmetro de colmo, indicando uma possível redução da tolerância ao acamamento e/ou quebramento de plantas quando exposta a condições climáticas adversas como vendavais. Para a versão HPD354H, indica-se preferencialmente o lançamento da contraparte transgênica HPD354YH pelo fato da versão H ter uma redução significativa do diâmetro de colmo e também um risco considerável pela menor tolerância ao acamamento e/ou quebramento de plantas nas mesmas condições.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, B. M.; BURIN, C.; TOEBE, M.; DA SILVA, L. P. Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e à qualidade nutricional. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 884-891, 2015.

ALVES, B. M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, M.; BURIN, C.; DA SILVA, L. P. Variability of grain productivity and energy profile of maize (*Zea mays L.*) genotypes. **Journal of Cereal Science**, Pretoria, v. 60, n. 1, p. 164-171, 2014.

ARAÚJO, L.; SILVA, A.; CRUZ, I.; CARMO, E.; NETO, A.; GOULART, M.; RATTES, J. FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis* E *Doru luteipes* EM MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 205-214, 2011.

ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; SANGOI, L. Arranjo de plantas em milho: análise do estado da arte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.5, p.1075-1084, 2001.

BARCELOS, P. H. S.; ANGELINI, M.R. Controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em diferentes tecnologias Bts (*Bacillus thuringiensis*) na cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 5, n. 1, p. 35-40, 2018.

BEDIN, F. A.; ASSMANN, E. J.; POLO, L. R. T.; SCHUSTER, I. **Eficiência de eventos transgênicos de resistência a insetos em soja e milho**. Revista Cultivando o Saber, Cascavel, v. 8, n. 2, p. 201-214, jun. 2015. Disponível em: [https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando\\_o\\_saber/55d1ef7ceb18d.pdf](https://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/55d1ef7ceb18d.pdf). Acesso em: 30 set. 2016.

BUNTIN, G. D.; ALL, J. N.; LEE, R. D.; WILSON, D. M. Plant-incorporated *Bacillus thuringiensis* resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. **Journal of Economic Entomology**, Indiana, v. 97, n. 5, p. 1603-1611, 2004.

BUNTIN, G. D.; LEE, R. D.; WILSON, D. M.; MCPHERSON, R. M. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 84, n. 1, p. 37-42, 2001

CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; VALICENTE, F. H.; WAQUIL, J. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, N. P.; MENDES, S. M. **Milho Bt: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Circular técnica, Nº 135), 2009, 25 p.

DELAMAR Z. D.; FLANDERS K. L.; HOLLMAN J. H.; MASK P. L. Efficacy of transgenic corn against southern insect pests. In: Marion Junction, **Arthropod Management Tests**, Alabama, v. 24, n. 1, p. 417-418, 1999.

DEMÉTRIO, C. S.; FORNASIERI FILHO, D.; CAZETTA, J. O.; CAZETTA, D. A. Desempenho de híbridos de milho submetidos a diferentes espaçamentos e densidades populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1691-1697, 2008

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

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; NETO, A. F.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B. EFEITO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO MON810 SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 25-35, 2010.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system**. Ciência e agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Impactos ambientais das plantas transgênicas: as evidências e as incertezas. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre v. 3, n. 3, p. 30-41, 2001.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. 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.

MICHELOTTO, M. D.; PEREIRA, A. D.; FINOTO, E. L.; DE FREITAS, R. S. Controle de pragas em híbridos de milho geneticamente modificados. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 1, n. 145, p. 36-38, 2011.

MUMM, R. H. Backcross versus forward breeding in the development of transgenic maize hybrids: theory and practice. **Crop science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 164-171, 2007.

NOLAN, E.; SANTOS, P. The contribution of genetic modification to changes in corn yield in the United States. **American Journal of Agricultural Economics**, Oxford, v. 94, n. 5, p. 1171-1188, 2012.

PEREIRA, E. J. G.; STORER, N. P.; SIEGFRIED, BLAIR, D. Inheritance of Cry1F resistance in laboratory-selected European corn borer and its survival on transgenic corn expressing the Cry1F toxin. **Bulletin of entomological research**, Cambridge, v. 98, n. 6, p. 621-629, 2008.

RAS - **Regras para análise de Sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária do Brasil, Brasília: Coordenação de Laboratório Vegetal , 1992, 365 p.

REAY-JONES, F. P. F.; REISIG, D. D. Impact of corn earworm injury on yield of transgenic corn producing Bt toxins in the Carolinas. **Journal of economic entomology**, Indiana, v. 107, n. 3, p. 1101-1109, 2014.

REAY-JONES, F. P. F.; WIATRAC, P.; GREENE, J. K. Evaluating the performance of transgenic corn producing *Bacillus thuringiensis* toxins in South Carolina. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Charleston, v. 26, n. 2, p. 77-86, 2009.

REAY-JONES, F. P. F.; WIATRAK, P. Evaluation of new transgenic corn hybrids producing multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in South Carolina. **Journal of Entomological Science**, Helen, v. 46, n. 2, p. 152-164, 2011.

RICE, M. E.; PILCHER, C. D. Potential benefits and limitations of transgenic Bt corn for management of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **American Entomologist**, Baltimor, v. 44, n. 2, p. 79-101, 1998.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M. L. D.; SILVA, P. R. F. D.; RGENTA, G. Bases morfofisiológicas para maior tolerância dos híbridos modernos de milho a altas densidades de plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, p. 101-110, 2002.

SANTOS, P. G.; JULIATTI, F. C.; BUIATTI, A. L.; HAMAWAKI, O. T. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 597-602, 2002.

SILVA, A. G.; CUNHA JUNIOR, C. R.; ASSIS, R. L.; IMOLES, A. S. Influência da população de plantas e do espaçamento entre linhas nos caracteres agrônômicos do híbrido de milho P30K75 em Rio Verde, Goiás. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 2, p. 89-96, 2008.

SIMON, G. A.; KAMADA, T.; MOITEIRO, M. Divergência genética em milho de primeira e segunda safra. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 449-457, 2012.

STEWART JR. C. N.; HALFHILL, M. D.; WARWICK, S. I. Genetic modification: transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v. 4, n. 10, p. 806-817, 2003.

TEIXEIRA, F. F.; COSTA, F. M.; DE OLIVEIRA SÁBATO, E.; LEITE, C. E. P.; MEIRELLES, W. F.; GUIMARÃES, C. T.; BELICUAS, S. N. J. Pré-melhoramento de milho quanto à resistência a enfezamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 1, p. 51-58, 2013.



VALLE, Í. C. A.; ALVES, J. M. A.; DOS SANTOS SILVA, L.; UCHÔA, S. C. P.; ALBUQUERQUE, J. D. A. A.; DA SILVA, D. C. O. Produção do milho híbrido 30F35HR cultivado na savana de Roraima em diferentes densidades de plantio. **Revista Agro@ambiente On-line**, Boa Vista, v. 7, n. 3, p. 294-303, 2013.

VON PINHO, R. G.; GROSS, M. R.; STEOLA, A. G.; CRUZ MENDES, M. Adubação nitrogenada, densidade e espaçamento de híbridos de milho em sistema plantio direto na região sudeste do Tocantins. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, p. 733-739, 2008.

WAQUIL, J. M.; DOURADO, P. M.; DE CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, W. S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; MARTINELLI, S. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento Bt piramidado Cry1A. 105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 12, p. 1529-1537, 2014.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M.; FERREIRA; FOSTER, JOHN 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, 2010.

## ANEXO

**Artigo publicado:** Comparison between the performance of genetically modified and conventional maize hybrids in Brazil.

**Revista:** Australian Journal of Crop Science AJCS

Pages 1732-1737 doi: 10.21475/ajcs.18.12.11.p1333

Para acessar: <https://www.cropj.com/november2018.html>