

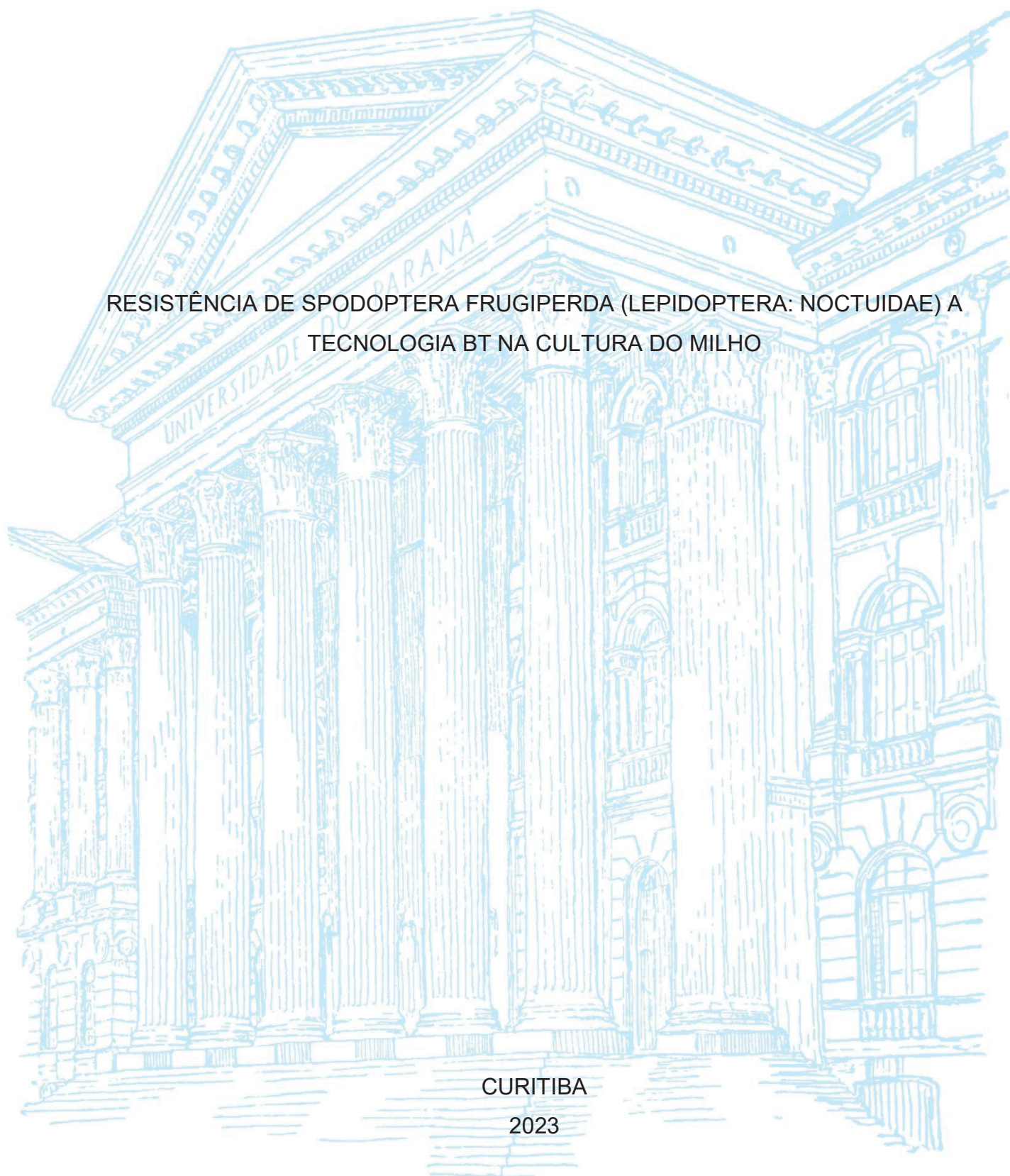
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

EDUARDO KIERAS GUGELMIN

RESISTÊNCIA DE SPODOPTERA FRUGIPERDA (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A
TECNOLOGIA BT NA CULTURA DO MILHO

CURITIBA

2023



EDUARDO KIERAS GUGELMIN

RESISTÊNCIA DE SPODOPTERA FRUGIPERDA (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A
TECNOLOGIA BT NA CULTURA DO MILHO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Fitossanidade.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Bernardi

CURITIBA

2023

A Deus e toda minha família.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por toda a força.

À minha família pelo apoio e incentivo ao longo desta jornada.

Ao professor Dr. Daniel Bernardi, sua orientação e conhecimento foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

À equipe de Pós-Graduação Lato Sensu em Fitossanidade, a qual sou extremamente grato por todo o suporte recebido, possibilitando a conclusão deste curso e o aprimoramento de todo conhecimento adquirido na graduação.

"A ciência é a arte de criar perguntas que possam ser respondidas."
Richard Feynman (1965)

RESUMO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas agrícolas em todo o mundo, com ampla aplicação em diversos setores. No Brasil, é cultivado em todo o país, sendo um dos principais produtores e exportadores globais. A tecnologia Bt no milho, que envolve a introdução de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) para expressar proteínas inseticidas, oferece vantagens significativas no controle de pragas. Contudo, a utilização inadequada da tecnologia Bt pode levar a evolução da resistência em populações de insetos-praga, como a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). A resistência de pragas a insetos é um processo complexo que ameaça a eficácia da tecnologia Bt no controle, o que representa um desafio para a agricultura moderna. Para enfrentar esse desafio, é essencial adotar medidas de Manejo de Resistência de Insetos (MRI) em cultivos de milho Bt. Dentre as principais estratégias de MRI estão a pirâmide de genes Bt, que consiste na inserção de múltiplos genes que codificam diferentes proteínas Cry do Bt em uma única planta transgênica, e a utilização de áreas de refúgio, que consiste em plantar uma parcela de plantas não-Bt próximas às plantas Bt. A implementação adequada da área de refúgio é fundamental para garantir a eficácia contínua da tecnologia Bt no controle de pragas. O presente estudo buscou reunir informações relevantes sobre a resistência de *S. frugiperda* à tecnologia Bt no milho e abordar estratégias de Manejo da Resistência de Insetos (MRI). Compreender os mecanismos de resistência e identificar estratégias de manejo são fundamentais para preservar a produtividade e a viabilidade econômica da cultura do milho, garantindo a sustentabilidade agrícola. A adoção responsável da tecnologia Bt e a implementação adequada das estratégias de manejo são cruciais para evitar os casos de resistência. Ressalta-se a necessidade contínua de pesquisas para aprimorar as estratégias de MRI e enfrentar os desafios futuros no controle da resistência de *Spodoptera frugiperda* ao milho Bt.

Palavras-chave: Manejo de resistência de insetos; Tecnologia Bt; Lagarta-do-cartucho; Milho.

ABSTRACT

Maize (*Zea mays* L.) is one of the main agricultural crops worldwide, with broad applications in various sectors. In Brazil, it is grown throughout the country and is one of the major global producers and exporters. Bt technology in maize, involving the introduction of genes from the *Bacillus thuringiensis* (Bt) bacterium to express insecticidal proteins, offers significant advantages in pest control. However, improper use of Bt technology can lead to the development of resistance in pest insect populations, such as the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Insect pest resistance is a complex process that threatens the efficacy of Bt technology in pest control, posing a challenge to modern agriculture. To address this challenge, the adoption of Insect Resistance Management (IRM) measures in Bt maize cultivation is essential. The main IRM strategies include Bt gene stacking, which involves the insertion of multiple genes encoding different Cry proteins from Bt into a single transgenic plant, and the use of refuge areas, which entails planting a portion of non-Bt plants adjacent to Bt plants. Proper implementation of refuge areas is fundamental to ensure the continuous efficacy of Bt technology in pest control. The present study sought to gather relevant information on the resistance of *S. frugiperda* to Bt technology in maize and address Insect Resistance Management (IRM) strategies. Understanding resistance mechanisms and identifying management strategies are crucial to preserve maize productivity and economic viability, ensuring agricultural sustainability. Responsible adoption of Bt technology and adequate implementation of management strategies are critical to prevent the development of resistance in pest insects, safeguarding the effectiveness of this important technology in modern agriculture. Continuous research is emphasized to enhance IRM strategies and tackle future challenges in controlling *Spodoptera frugiperda* resistance to Bt maize.

Keywords: Insect resistance management; Bt technology; *Spodoptera frugiperda*; Maize.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 JUSTIFICATIVA	17
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo geral	17
1.2.2 Objetivos específicos	18
1.3 METODOLOGIA	18
2 DESENVOLVIMENTO	19
2.1 CULTURA DO MILHO	19
2.1.1 Processos de Transgenia	19
2.1.1.1 Transformação Genética por Biobalística	20
2.1.1.2 Transformação Genética por Agrobacterium	20
2.2 <i>Bacillus thuringiensis</i>	21
2.3 AÇÃO DA TECNOLOGIA BT EM INSETOS-PRAGAS	22
2.4 RESISTÊNCIA	23
2.4.1 Herança de resistência	24
2.5 <i>SPODOPTERA FRUGIPERDA</i>	25
2.5.1 Danos causados por <i>S. frugiperda</i> no milho	26
2.5.2 Resistência de <i>S. frugiperda</i> em milho Bt	27
2.5.3 Manejo de resistência de insetos	28
2.5.3.1 Pirâmide de genes	28
2.6 ALTA DOSE E REFÚGIO	28
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas agrícolas em todo o mundo, com mais de 3500 aplicações em diversos setores (BARROS et al., 2014; CONTINI, ELISIO et al., 2019). No Brasil, é cultivado em todo o país, sendo um dos principais produtores e exportadores globais (SILVA et al., 2020). O sucesso da cultura no país está relacionado a tecnologias adotadas, como a utilização de híbridos cada vez mais produtivos juntamente com técnicas modernas de manejo (FELDMANN et al., 2023). A transgenia desempenha um papel crucial na cultura do milho, oferecendo inúmeras vantagens agrícolas e econômicas, permitindo a utilização de tecnologias de inserção de genes com proteínas inseticidas como as Cry da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (CARNEIRO et al., 2009).

O cultivo do milho com tecnologia Bt oferece diversas vantagens e benefícios significativos na agricultura moderna, incluindo a diminuição da necessidade de inseticidas, resultando em uma menor exposição do trabalhador e do ambiente a estes produtos. Além disso, essa abordagem facilita a logística nos tratos culturais, reduz a contaminação dos grãos por micotoxinas e minimiza as perdas causadas pela infestação de insetos (MENDES; WAQUIL, 2009). O maior risco associado a essa tecnologia está na sua utilização inadequada, como a falta de áreas de refúgio, podendo levar ao desenvolvimento de indivíduos resistentes à proteína Cry encontrada nas plantas Bt.

Um das principais pragas associadas ao sistema de cultivo de milho no Brasil, é a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), que pode causar danos severos na cultura. À medida que as lagartas crescem e se desenvolvem, os danos se agravam, estendendo-se tanto às folhas quanto ao cartucho do milho e espiga (DA ROSA et al., 2010). Diversos trabalhos como os de Lourenção (2010), Bernardi et al. (2016) e Souza et al. (2019) e relatam a resistência de *S. frugiperda* a algumas proteínas no milho Bt.

A resistência de pragas a insetos em cultivos agrícolas é um processo complexo que surge quando as populações de insetos adquirem a habilidade de sobreviver e se reproduzir mesmo quando expostas a métodos de controle, como pesticidas ou plantas transgênicas contendo proteínas tóxicas, como é o exemplo do milho Bt (LOURENÇÃO et al., 2010). Para diminuir o número de indivíduos resistentes e, conseqüentemente, a pressão sobre a tecnologia, devem ser adotadas

medidas de Manejo de Resistência de Insetos (MRI). Entre as principais estratégias estão a pirâmide de genes Bt, que é uma avançada estratégia de engenharia genética, onde são inseridos múltiplos genes que codificam diferentes proteínas Cry derivadas do Bt em uma única planta transgênica (CARNEIRO et al., 2009; BERNARDI et al., 2016) e áreas de refúgio. A estratégia de área de refúgio em milho Bt envolve a alocação de uma parcela de plantas não modificadas geneticamente em uma área próxima àquela semeada com a tecnologia Bt. Essa área serve como um habitat para a sobrevivência de insetos suscetíveis, permitindo que eles se reproduzam e mantenham uma população diversificada, reduzindo a probabilidade de surgimento de insetos resistentes (LOURENÇÃO et al., 2010; RESENDE et al., 2014).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo abordar o manejo de resistência de insetos na cultura do milho com tecnologia Bt, enfatizando a importância das técnicas de MRI como piramidação de genes e das áreas alta dose e refúgio como estratégias eficazes para enfrentar os desafios da evolução da resistência de pragas de insetos. Desta forma, garantir a sustentabilidade e eficácia do controle de pragas no campo em áreas com cultivos Bt.

1.1 JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a relevância da cultura do milho no agronegócio brasileiro e a importância de se manter viável a tecnologia Bt no campo, o presente trabalho teve por objetivo de reunir informações referentes ao tema que possam auxiliar a melhor decisão de manejo pelos produtores e profissionais da área.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Reunir informações de relevância para o tema resistência de *S. frugiperda* a tecnologia Bt no milho.

1.2.2 Objetivos específicos

- Explicar características da tecnologia Bt e casos de resistência de lagartas *S. frugiperda*.
- Reunir informações referentes ao Manejo de Resistência de Insetos (MRI)

1.3 METODOLOGIA

O estudo foi realizado em formato de revisão de literatura narrativa, com o propósito na construção de uma contextualização para o problema e a análise das possibilidades presentes na literatura consultada para a concepção do referencial teórico da pesquisa. A revisão de literatura sobre o tema resistência de *Spodoptera frugiperda* à tecnologia Bt, teve a consultas em artigos científicos, notas científicas, livros impressos, trabalhos de dissertações e teses indexados em bases como: SCIELO, CAPES e NDLTD. Assim como, foram priorizados artigos mais recentes, que abordavam os aspectos relevantes para cada tema em questão. Foram analisados artigos que discutiam os avanços e desafios enfrentados nessa área, incluindo estudos sobre a evolução da resistência, estratégias de manejo e alternativas de controle. Essa abordagem foi adotada para garantir uma análise ampla e aprofundada do tema, incorporando diferentes perspectivas e evidências científicas relevantes.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CULTURA DO MILHO

O milho (*Zea mays* L.) tem sua origem na América Central, mais especificamente no atual território do México e Guatemala. É uma planta da família Gramineae/Poaceae e acredita-se o milho selvagem, conhecido como teosinto (*Zea mays* ssp.), tenha sido domesticado há mais de 8000 anos. É uma das principais culturas agrícolas em todo o mundo. A planta apresenta uma ampla adaptabilidade, podendo ser cultivada em diferentes climas, desde tropicais e subtropicais até temperados e apresenta mais de 3500 aplicações em setores como alimentação humana e animal, além de ser usado na fabricação de biocombustíveis, bebidas e polímeros (BARROS et al., 2014; CONTINI, ELISIO et al., 2019). No Brasil, é cultivado em todo o país com destaque para as regiões Centro-Oeste, Sul e Nordeste. O país tem uma significativa produção de milho, sendo um dos principais produtores e exportadores globais (SILVA et al., 2020). A produção estimada de milho para safra 2022/23 é de 127,8 milhões de toneladas, 12,9% superior a safra anterior (CONAB, 2023).

O sucesso da cultura no país está relacionado com tecnologias adotadas como a utilização de híbridos cada vez mais produtivos juntamente com técnicas modernas de manejo empregadas. Os híbridos juntamente com o melhoramento genético e a transgenia permitiram selecionar e aumentar a resistência da planta ao ataque de pragas (FELDMANN et al., 2023).

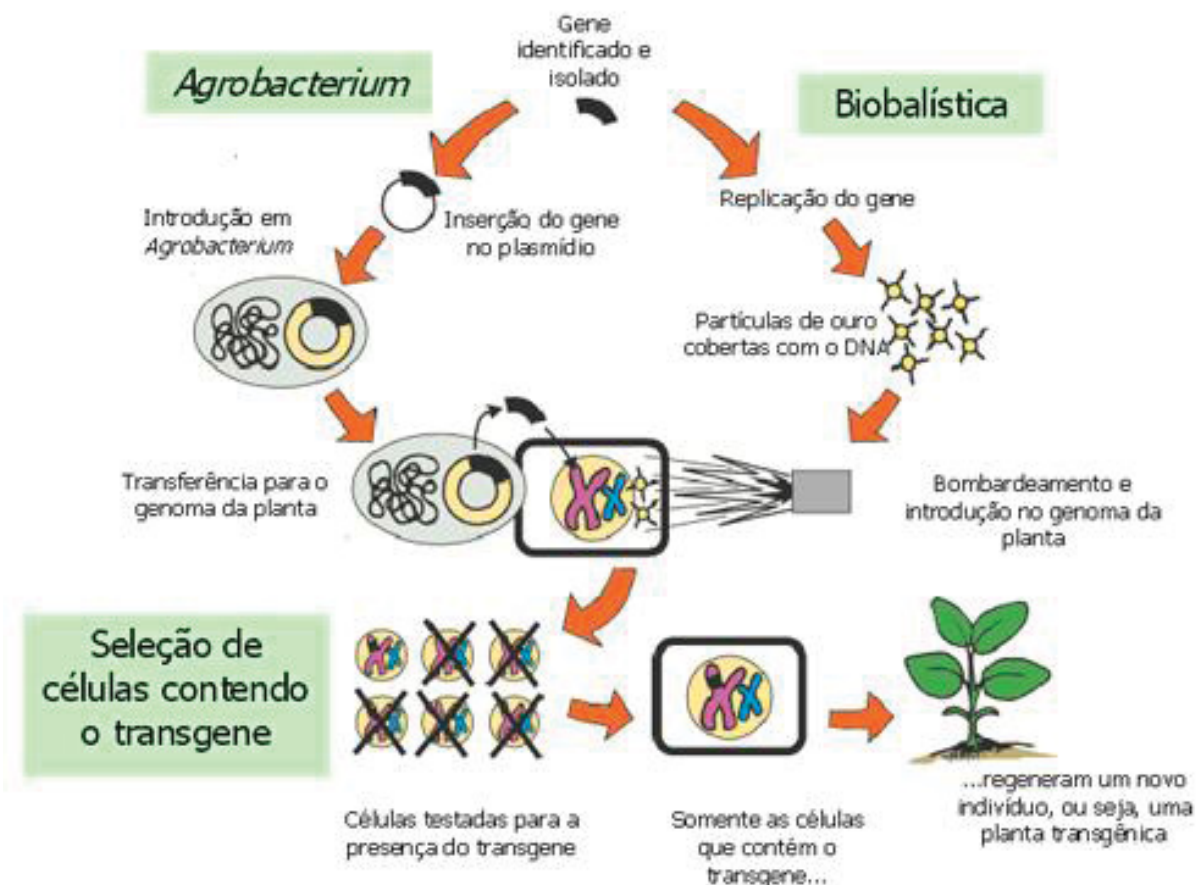
2.1.1 Processos de Transgenia

A transgenia desempenha um papel crucial na cultura do milho, oferecendo inúmeras vantagens agrícolas e econômicas. Através da introdução de genes específicos, as variedades transgênicas de milho podem expressar características desejáveis, como resistência a pragas e doenças, tolerância a herbicidas, maior teor nutricional e adaptação a diferentes condições ambientais. Entre os principais processos empregados nessa tecnologia estão a transformação por biobalística e a técnica por meio da *Agrobacterium*.

2.1.1.1 Transformação Genética por Biobalística

A transformação genética por biobalística, também conhecida como bombardeamento de partículas, é uma técnica amplamente utilizada na obtenção de plantas transgênicas com características desejáveis. Nesse método, partículas metálicas revestidas com DNA exógeno são disparadas diretamente no interior das células vegetais por meio de um acelerador de partículas (CARNEIRO et al., 2009).

FIGURA 1: EQUIPAMENTO UTILIZADO PARA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA VIA BOMBARDEAMENTO DE PARTÍCULAS.



FONTE: Adaptado de Carneiro et al. (2004) e Carneiro et al. (2009).

2.1.1.2 Transformação Genética por Agrobacterium

A transformação genética por *Agrobacterium* é outra estratégia amplamente utilizada na obtenção de plantas transgênicas. Essa técnica se baseia na capacidade natural da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* de transferir seu DNA (T-DNA) para as células vegetais e, assim, causar o crescimento descontrolado de

tecidos, formando tumores nas plantas hospedeiras. No entanto, esse processo natural pode ser explorado de forma controlada para transferir genes desejados para as plantas, em vez de causar tumores (POSSA et al., 2010).

2.2 *Bacillus thuringiensis*

O *Bacillus thuringiensis* (Bt) (FIGURA 02) uma bactéria Gram positiva, entomopatogênica, é amplamente estudado como agente de controle de pragas, sendo encontrado em diferentes ambientes, como solo, água, insetos mortos e algumas plantas (SOUSA et al., 2019).

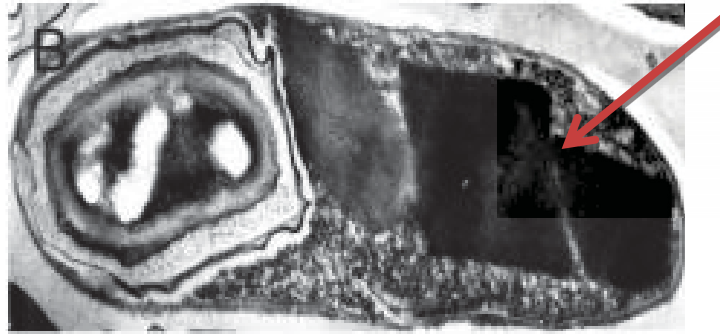
FIGURA 02 - *BACILLUS THURINGIENSIS* EM MICROSCOPIA DE CONTRASTE



FONTE: Adaptado de De Souza Lima (2010).

Possui uma capacidade única de formar cristais protéicos (FIGURA 03), também conhecidos como delta-endotoxinas ou proteínas Cry, as quais atribuem a atividade inseticida do *B. thuringiensis*. Estas proteínas são produzidas durante a fase estacionária e acumuladas nas células mãe durante a esporulação, representando de 20 a 30% da proteína total da célula (DE SOUZA LIMA, 2010).

FIGURA 03 - PROTEÍNAS CRY EM FORMATO DE CRISTAL

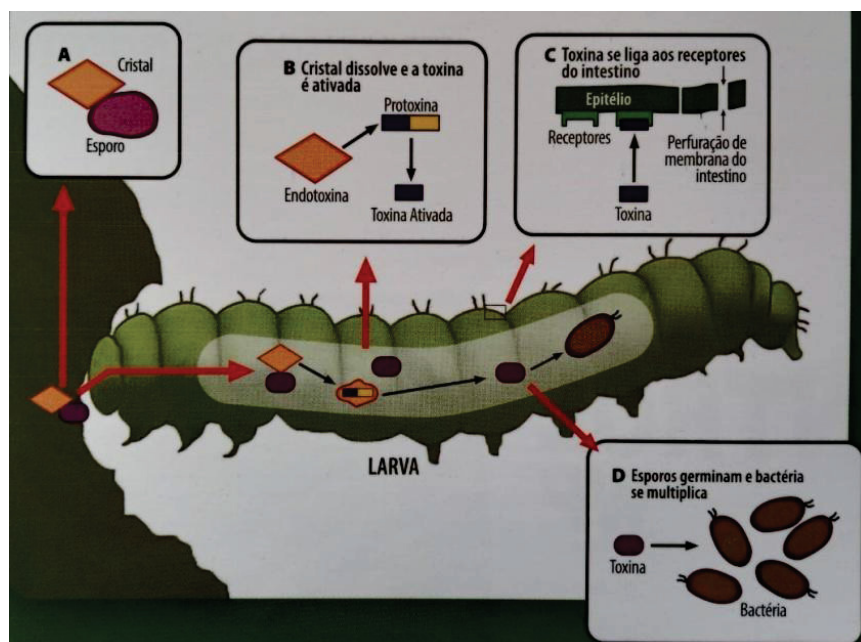


FONTE: Adaptado de De Souza Lima (2010).

2.3 AÇÃO DA TECNOLOGIA BT EM INSETOS-PRAGAS

A toxina se liga a receptores no intestino médio do inseto, levando-o a interromper a alimentação e perder a mobilidade. Isso resulta na ruptura do intestino e na penetração de esporos em seu corpo. A morte do inseto é causada por septicemia, uma infecção generalizada, seguida pela germinação dos esporos dentro do corpo do inseto (FIGURA 04). Os sintomas da intoxicação por ingestão de Bt incluem perda de apetite, abandono do alimento, regurgitação, diarreia, perda de mobilidade, paralisia em um período de 18 a 72 horas e mudança na aparência do tegumento, que pode ficar opaco ou marrom escuro (FIGURA 05) (POLETTI, 2020).

FIGURA 04 - PROCESSO DE CONTAMINAÇÃO DE LAGARTAS POR BT.



FONTE: Promip (2020).

FIGURA 05: COMPARATIVO ENTRE UMA LAGARTA MORTA INFECTADA POR BT E OUTRA DE APARENCIA NORMAL.



FONTE: O autor (2022).

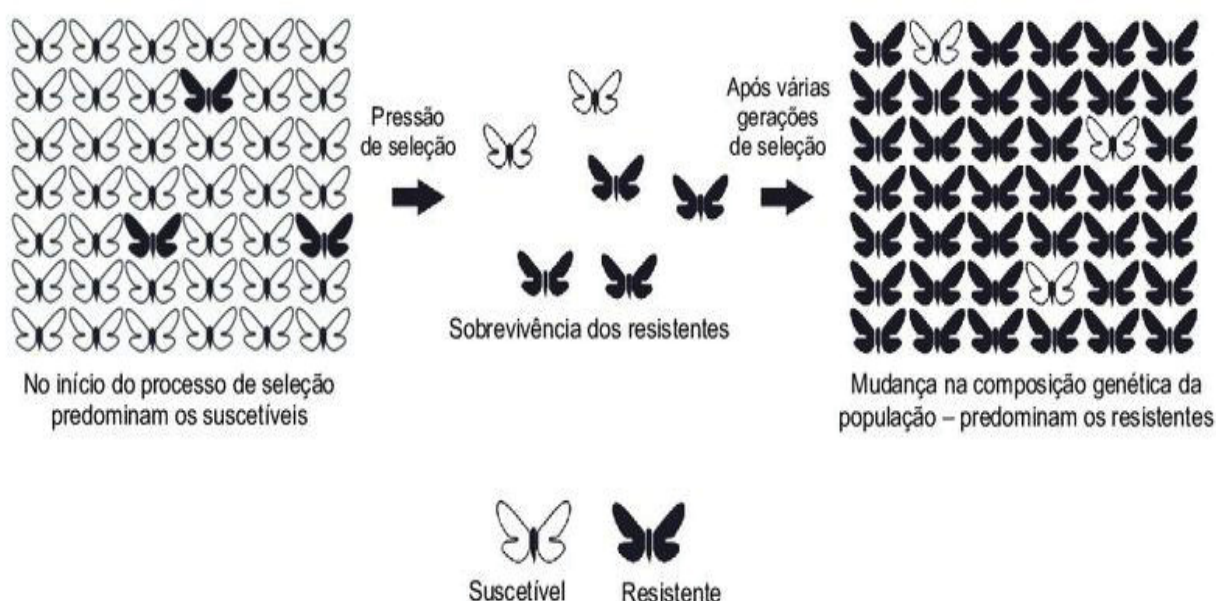
No milho por meio de técnicas como a biobalística ou a infecção com *Agrobacterium*, o vetor é introduzido nas células-alvo do milho. Uma vez dentro das células, os genes da proteína Cry são integrados ao genoma do milho e passam a ser expressos pela planta (LOURENÇÃO et al., 2010).

2.4 RESISTÊNCIA

O cultivo do milho com tecnologia Bt oferece diversas vantagens e benefícios significativos na agricultura moderna, incluindo a diminuição da necessidade de inseticidas. O maior risco associado a essa tecnologia está na sua utilização inadequada, como a falta das áreas de refúgios, podendo levar ao desenvolvimento de indivíduos resistentes à proteína Cry encontrada nas plantas Bt (MENDES; WAQUIL, 2009). A resistência de pragas de insetos em cultivos agrícolas é um processo complexo que surge quando as populações adquirem a habilidade de sobreviver e se reproduzir mesmo quando expostas a métodos de controle, como pesticidas ou plantas transgênicas contendo proteínas tóxicas, como é o exemplo do

milho Bt (LOURENÇÃO et al, 2010). Dentro de uma população de pragas, uma pequena parcela de indivíduos possui resistência genética a tecnologia. Entretanto, a predominância é a presença de insetos suscetíveis (BERNARDI et al., 2016a). A utilização contínua da mesma tecnologia de forma inadequada seleciona esses indivíduos resistentes, que podem se reproduzir e gerar descendentes também resistentes (FIGURA 06) (NOGUEIRA, 2018).

FIGURA 06: ESQUEMA DO PROCESSO DE EVOLUÇÃO DA RESISTÊNCIA A CAMPO

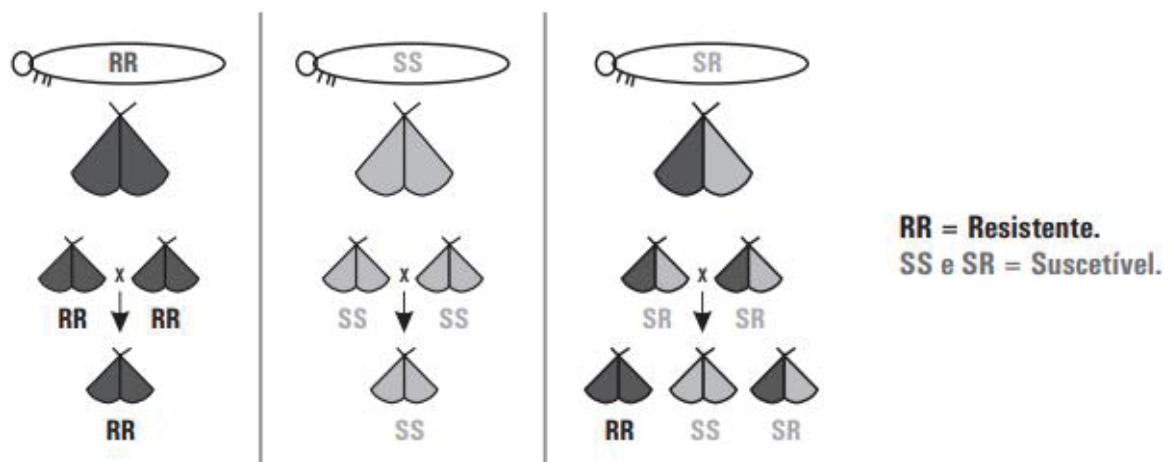


FONTE: Bernardi et al. (2016b)

2.4.1 Herança de resistência

A herança da resistência em insetos ocorre quando indivíduos resistentes se cruzam, gerando uma descendência também resistente. Esse caráter genético é passado ao longo de várias gerações da população de pragas, até que a maioria dos indivíduos se torne resistente. Nesse contexto, a presença de áreas refúgio assume uma importância crucial, pois atua como um reservatório de insetos suscetíveis. Esses indivíduos suscetíveis têm a oportunidade de se cruzar com os resistentes, o que geralmente resulta em uma descendência suscetível (FIGURA 07). Essa estratégia reduz significativamente as chances e o tempo de evolução de uma possível resistência nas populações de insetos, contribuindo para a preservação da eficácia das táticas de controle empregadas (LOURENÇÃO 2010).

FIGURA 07: ESQUEMA REPRESENTANDO A HERANÇA DE RESISTÊNCIA



FONTE: Lourenção et al. (2010).

2.5 SPODOPTERA FRUGIPERDA

A *S. frugiperda*, também conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma praga agrícola de grande importância. As fêmeas depositam de 200 a 500 ovos por postura, sendo capazes de ovipositar mais de 1000 ovos. As lagartas possuem uma marca em forma de "Y" invertido na cabeça e três linhas dorsais branco-amareladas com pontos pretos no corpo (FIGURA 08). As lagartas dessa espécie são canibais, por isso geralmente se encontra uma lagarta grande por planta no milho ou uma por botão floral no algodão. O período larval varia de 15 a 25 dias, enquanto as pupas ficam no solo. Os adultos são mariposas com asas cinza-escuro na parte da frente e branco acinzentadas na parte de trás. O ciclo completo da espécie, do ovo ao adulto, leva de 25 a 30 dias (BERNARDI ; OMOTO, 2018).

FIGURA 08 - LAGARTA DO CARTUCHO DO MILHO (*Spodoptera frugiperda*)

FONTE: Adaptado de Gonçalves et al. (2021).

2.5.1 Danos causados por *S. frugiperda* no milho

No estágio inicial de infestação, as lagartas iniciam seu ataque ao milho raspando as folhas mais jovens. Nesse período, é característico o dano peculiar causado pela praga, em que a lagarta se alimenta de um lado da folha, deixando o outro lado intacto. À medida que as lagartas crescem e se desenvolvem, os danos se agravam, estendendo-se tanto às folhas quanto ao cartucho do milho (FIGURA 09). Em sua fase larval bem desenvolvida, essas pragas podem medir aproximadamente 5 cm de comprimento e permanecem nessa fase por um período que varia entre 12 a 30 dias. O impacto dessas atividades alimentares no cultivo do milho pode ser devastador, comprometendo a produtividade e a qualidade dos grãos colhidos (DA ROSA et al., 2010).

FIGURA 09 - DANOS PROVOCADOS POR *SPODOPTERA FRUGIPERDA* EM UMA PLANTA DE MILHO



FONTE: O autor (2023).

2.5.2 Resistência de *S. frugiperda* em milho Bt

A resistência de *S. frugiperda* ao milho Bt tem se tornado uma preocupação relevante na agricultura moderna. Estudos conduzidos por Bernardi et al. (2016a) revelaram a ocorrência de resistência cruzada e múltipla em populações dessa praga expostas a diferentes proteínas Cry. Além disso, pesquisas conduzidas por Souza et al. (2019) evidenciaram a resistência de *S. frugiperda* à tecnologia Bt em lavouras de milho no Brasil, o que reforça a necessidade de medidas eficazes de manejo para preservar a efetividade do controle de pragas. LOURENÇÃO et al. (2010) também investigaram a herança da resistência em *S. frugiperda*, enfatizando a importância das áreas de refúgio como estratégia para evitar a seleção de indivíduos resistentes.

2.5.3 Manejo de resistência de insetos

O Manejo da Resistência de Insetos (MRI) em milho Bt é uma preocupação significativa para a agricultura moderna. Diversos autores têm contribuído com estudos e recomendações para abordar esse desafio. Segundo Bernardi et al. (2016a) a utilização de estratégias de alta dose e refúgio é uma das abordagens mais eficazes para retardar o desenvolvimento da resistência em insetos pragas. Carneiro et al. (2009) também ressalta a importância da utilização de refúgio e da piramidação de genes.

2.5.3.1 Pirâmide de genes

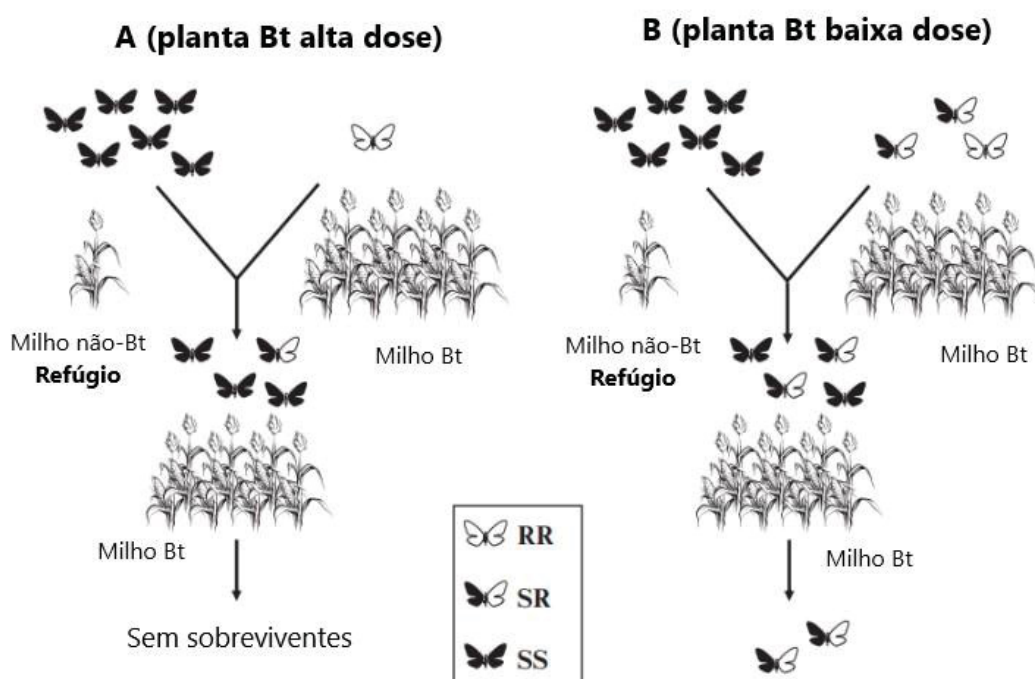
A pirâmide de genes Bt, também conhecida como empilhamento de genes Bt, é uma avançada estratégia de engenharia genética utilizada no controle de pragas de insetos em culturas de milho Bt. Como a especificidade das toxinas *Bts* são altas, essa abordagem envolve a inserção de múltiplos genes que codificam diferentes proteínas Cry, planta transgênica. Com a expressão conjunta de várias proteínas tóxicas, cada uma direcionada a alvos específicos no sistema digestivo dos insetos pragas, dificulta-se a seleção de indivíduos resistentes. Essa diversidade de proteínas Bt aumenta a suscetibilidade das pragas e prolonga a eficácia do controle de insetos nas lavouras de milho BT (CARNEIRO, 2009). Segundo Nogueira (2018) a piramidação de genes pode ser classificada dentro do MRI como uma estratégia de ataque múltiplo, já que os insetos resistentes a um tipo de proteína da pirâmide serão mortos por outras.

2.6 ALTA DOSE E REFÚGIO

A estratégia de alta dose e refúgio é uma abordagem recomendada para o manejo da resistência de insetos em culturas Bt. Essa estratégia combina a expressão de altas doses de proteínas tóxicas nas plantas Bt com a criação de áreas de refúgio compostas por plantas não-Bt (FERRÉ et al., 2008). É considerada alta dose a planta que expressa a proteína inseticida em uma concentração igual ou superior a 25 vezes a concentração letal necessária para causar a mortalidade de 99,9% da população suscetível da praga-alvo de controle (GOULD, 1998). A

evolução da resistência pode ser retardada se os insetos homozigotos resistentes (RR) da área Bt acasalarem com insetos homozigotos suscetíveis (SS) oriundos da área de refúgio e se o inseto heterozigoto (SR) resultante do cruzamento ($SS \times RR$) for controlado pela concentração das proteínas insetidas expressas pela planta Bt (BERNARDI et al., 2016a). A ideia fundamental é que a resistência seja uma característica recessiva, tornando os insetos heterozigotos (SR) suscetíveis às altas doses de proteína (FIGURA 10), pois fenotipicamente estes se comportariam como homozigotos suscetíveis (SS) (WAQUIL, 2003; BERNARDI et al., 2016a).

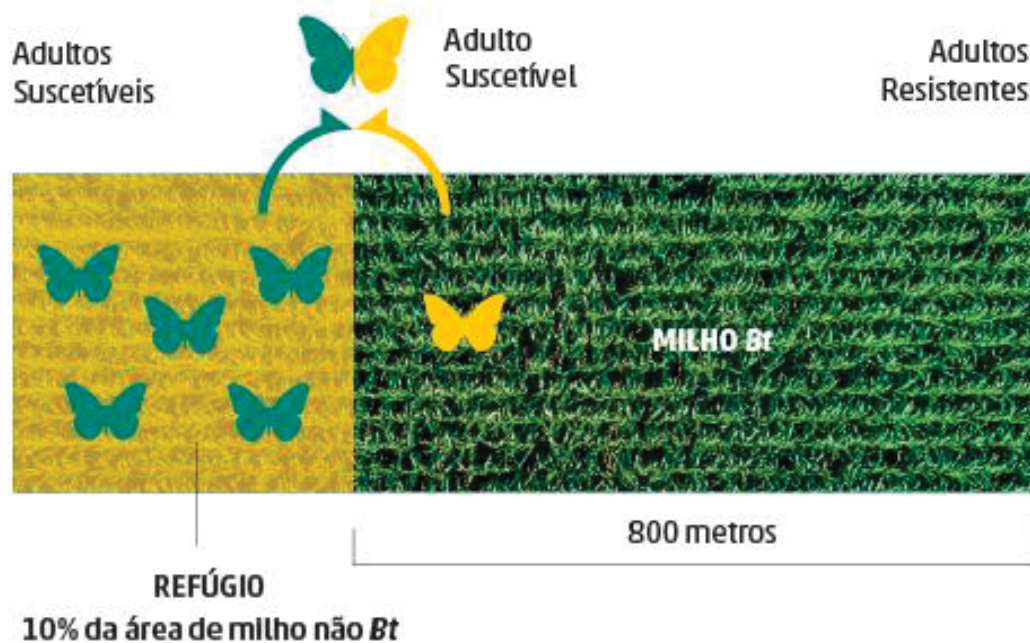
FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRATÉGIA DE ALTA DOSE



FONTE: Adaptado de Ferré et al. (2008) e Bernardi et al. (2016a).

A área de refúgio em milho Bt envolve a alocação de uma parcela de plantas não modificadas geneticamente em uma área próxima àquela plantada com milho Bt. Essa área de refúgio serve como um habitat para insetos suscetíveis, permitindo que eles se reproduzam e mantenham uma população diversificada (FIGURA 11). Essa diversidade genética reduz a pressão de seleção sobre a resistência e diminui a probabilidade de surgimento de insetos resistentes (LOURENÇÃO et al., 2010). A implementação adequada da área de refúgio é crucial para garantir a eficácia contínua da tecnologia Bt no controle de pragas e para promover a sustentabilidade do sistema de produção de milho (RESENDE et al., 2014).

FIGURA 11 - ESQUEMA EXPLICATIVO DO FUNCIONAMENTO DA ÁREA DE REFÚGIO

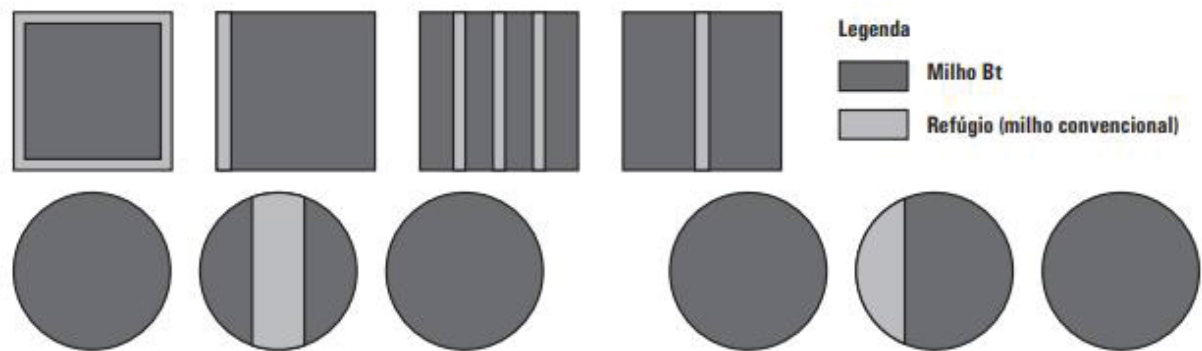


FONTE: Adaptado de Nogueira (2020).

Os principais pontos a serem considerados em um plantio de área de refúgio:

1. O tamanho da área de refúgio é dependente do total cultivado com a cultura sendo recomendada uma área de 10% do total para o milho com híbridos ou variedades sem a tecnologia Bt.
2. É recomendado que a semeadura do milho não-Bt seja feito ao mesmo tempo que o cultivo Bt e que tenha um ciclo vegetativo próximo.
3. O refúgio deve ter um bloco de plantas a no máximo 800 metros da área com milho Bt.
4. É recomendável a semeadura de faixas dentro de um campo com cultivo Bt para aumenta a eficácia do refúgio (FIGURA 12).
5. A semeadura do refugio deve ser na mesma propriedade e manejado pelo mesmo agricultor, de modo a garantir a produção de indivíduos suscetíveis.
6. Não realizar a mistura de sementes Bt e não-Bt

FIGURA 12 - OPÇÕES DE PLANTIO DE REFÚGIO



FONTE: Adaptado de Lourenção et al. (2010)

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O milho é uma cultura agrícola fundamental em todo o mundo, e a tecnologia Bt tem sido amplamente empregada para aumentar a produtividade e reduzir a utilização de inseticidas químicos. No entanto, o uso contínuo e inadequado da tecnologia pode levar ao desenvolvimento de resistência em populações de insetos-praga, como a *S. frugiperda*. A resistência de insetos-praga é um problema complexo e requer a adoção de medidas de manejo de resistência de insetos (MRI) para preservar a eficácia da tecnologia Bt. Dentre as estratégias de MRI abordadas estão a pirâmide de genes Bt, e a utilização de áreas de refúgio. A combinação de alta dose de proteínas tóxicas nas plantas Bt e a preservação de insetos suscetíveis na área de refúgio ajudam a retardar o desenvolvimento da resistência.

A relevância do estudo reside na necessidade de desenvolver abordagens mais eficazes para o controle de pragas na cultura do milho, considerando a resistência de *S. frugiperda* à tecnologia Bt. A compreensão dos mecanismos de resistência e a identificação de estratégias de manejo integrado de pragas são fundamentais para preservar a produtividade e a viabilidade econômica da cultura do milho, garantindo a sustentabilidade agrícola. Diante disso, este estudo contribui para a tomada de decisão dos produtores e profissionais da área, ao fornecer informações relevantes para o manejo eficaz da resistência de *S. frugiperda* à tecnologia Bt na cultura do milho. Espera-se que essas informações sejam aplicadas de forma consciente e sustentável, visando à preservação do potencial produtivo da cultura e a segurança alimentar.

REFERÊNCIAS.

- BERNARDI, O.; BERNARD, D.; HORIKOSHI, R.J.; OMOTO, C. Manejo da resistência de insetos a plantas Bt. Edição. **PROMIP– Manejo Integrado de Pragas**, Engenheiro Coelho, SP, Brasil, 2016a.
- BERNARDI, O.; OMOTO, C. Manejo de resistência de *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa armigera* e *Chrysodeixes includens* a inseticidas e plantas Bt (p. 9). **IRAC (Comite de Ação a Resistencia a Inseticidas)**. 2018.
- BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; G.; OMOTO, C. Estratégias de Manejo de Resistência de Insetos para Eventos de Milo Bt. *In*; : **Livro de palestras Milho e sorgo: inovações, mercado e segurança alimentar**. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p. 378-406, 2016b.
- BARROS, J. F.C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. 2014.
- CARNEIRO, A. A.; GUIMARAES, 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**. 2009.
- CONTINI, E. et al. **Milho: caracterização e desafios tecnológicos**. Brasília: Embrapa.(Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2), 2019.
- DA ROSA, Ana Paula Schneid Afonso et al. **Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho**. 2010.
- DE SOUZA LIMA, Gláucia Manoella. Proteínas bioinseticidas produzidas por *Bacillus thuringiensis*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 119-137, 2010.
- FELDMANN, Neuri Antonio et al. Tecnologia Bt no controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Revista Inovação: Gestão e Tecnologia no Agronegócio**, v. 2, p. 255-276, 2023.
- FERRÉ, J.; VAN RIE, J.; MACINTOSH, S. C. Insecticidal genetically modified crops and insect resistance management (IRM). *In*: **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008. p. 41-85.
- GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars; integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 701-726, 1998.
- LOURENÇÃO, A. L. F.; BARROS, R; MELO, EP de. Milho Bt: uso correto da tecnologia. Fundação MS. **Tecnologia e produção: Milho Safrinha e Culturas de Inverno**, p. 130, 2010.
- MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M. **Uso do milho Bt no manejo integrado de lepidópteros-praga: recomendações de uso**. 2009.

NOGUEIRA, Luciano. **Estratégia de mistura de sementes em eventos de milho bt “piramidado” a *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2018.

NOGUEIRA, Lucas. **Blog Aegro para negócios rurais.** Entenda a importância da área de refúgio na lavoura. Porto Alegre, 2020. Disponível em: <<https://blog.aegro.com.br/area-de-refugio/>> . Acesso em: 20 Jul. 2023.

OLIVEIRA, E. E. et al. O papel das plantas refúgio no manejo da resistência a cultivos Bt na lagarta-do-cartucho. **Pest Management Science**, v. 74, n. 7, p. 1529-1536, 2018.

POLETTI, M., **Promip.** Entendendo os bioprodutos (parte 02). Disponível em: <<https://promip.agr.br/entendendo-os-bioprodutos-parte-02/>>. Acesso em 15/07/2023.

POSSA, K. F. et al. Avaliação de eventos de milho transgênico produzidos por biobalística ou *Agrobacterium tumefaciens*. *In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo*. 2010. p. 10-18.

RESENDE, D. C. et al. Adoção da área de refúgio e manejo de resistência de insetos em milho Bt. **Revista de Política Agrícola**, v. 23, n. 1, p. 119-128, 2014.

SILVA, L. E. B. et al. Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. **Diversitas Journal**, v. 5, n. 3, p. 1636-1657, 2020.

SOUSA, M. F. et al. **Efeitos de biotecnologias de milho (*Zea mays* L.) Na estrutura de comunidades de artrópodes.** 2019.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. **Manejo de pragas na cultura do sorgo.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 27.