

06 Milho Bt: Uso Correto da Tecnologia

André Luis F. Lourenção¹
Ricardo Barros²
Elmo Pontes de Melo³

Dentre os maiores entraves na produção de milho com híbridos de alto investimento estão as pragas. Altas infestações vem causando danos severos, limitando o teto produtivo de híbridos de alta performance. O Manejo Integrado de Pragas vem para minimizar estes danos, com utilização responsável dos insumos agrícolas.

Na safra 2007/2008, uma nova ferramenta foi inserida neste contexto: a tecnologia Bt para a cultura do milho. Como toda a tecnologia, os benefícios econômicos serão alcançados somente se for aplicada de maneira adequada, seguindo-se as recomendações de órgãos de pesquisa e empresas detentoras das sementes, e respeitando as diretrizes legislativas que tangem sua utilização.

O uso correto da tecnologia implica em evitar a evolução das pragas para resistência no sentido de mantê-la eficiente ao longo do tempo, reduzir as aplicações de inseticidas, evitar contaminações ambientais e principalmente melhorar a rentabilidade do sistema, utilizando-a com o máximo de eficiência.

O presente trabalho tem por objetivo abordar o manejo de pragas-alvo através da utilização do milho Bt, primeira geração, que provoca supressão a *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* e controle sobre *Diatrea saccharalis* (Figura 6.1).



Figura 6.1. Pragas-alvo da tecnologia milho Bt, primeira geração.

6.1. Danos provocados pela lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda*

Nos primeiros ínstares, os danos causados pela lagarta-do-cartucho do milho são caracterizados pela raspagem do limbo foliar (“folha raspada”). Quando mais desenvolvidas, perfuram as folhas e as destroem parcial ou totalmente, danificando o “cartucho” da planta.

Bastante característico também é a quantidade de excrementos deixados pela lagarta no local de ataque. Esta praga pode ainda cortar plântulas, broquear o colmo, cortar o pendão e atacar as espigas.

A redução na produção, devido ao ataque de *S. frugiperda*, é influenciada por fatores como grau de infestação, local, híbrido, condição edafoclimática e estágio de desenvolvimento da praga e da cultura.

¹ Eng.º Agr.º M. Sc. (CREA/MS 9174/D) Pesquisador da FUNDAÇÃO MS.

² Eng.º Agr.º M. Sc. (CREA/MS 10602/D) Pesquisador da FUNDAÇÃO MS.

³ Eng.º Agr.º Doutor em Agronomia.

O potencial de dano provocado por esta praga, em milho, tem sido bastante estudado. No Brasil constataram-se perdas entre 15% e 34%, dependendo do estágio fenológico da cultura. Em estudos realizados no Paraná, observou-se perdas de 60% e 38% para condições de seca e de precipitações relativamente normais, respectivamente. Em algumas situações a praga pode até mesmo impedir a produção. Na Figura 6.2, pode-se observar os possíveis danos da praga a cultura do milho.



Figura 6.2. Aspecto visual dos tipos de danos de *S. frugiperda* em milho: a) Folhas raspadas, b) “Cartucho” danificado, c) Plântula cortada e d) Ataque à espiga.

6.2. *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bacillus thuringiensis é uma bactéria que ocorre naturalmente no ambiente, atacando lagartas. O gênero *Bacillus* possui uma fase de esporulação característica no seu desenvolvimento, na qual o esporo bacteriano e cristais protéicos são simultaneamente formados. Tais cristais em Bt, também chamados de δ -endotoxinas, são codificados pelos genes *cry*.

Uma das principais características do *B. thuringiensis* é sua alta especificidade em relação às espécies-alvo. Para liberar o núcleo inseticida é necessário que a proteína, em forma de cristal, seja primeiramente ingerida para depois, em ambiente alcalino, ser quebrada em pontos específicos que liberam este núcleo ativo.

A especificidade do *B. thuringiensis* deve-se a uma co-evolução de proteínas receptoras de superfície no intestino médio (mesêntero) dos insetos alvo sensíveis. Esses receptores ligam-se de forma específica, modificando sua conformação, causando vazamento de íons e dano osmótico nas células, o que conduz à desintegração do mesêntero e a morte do inseto. No sistema digestivo de humanos e animais superiores, o ambiente é ácido e a proteína é completamente degradada em minutos. Desta forma, a proteína não apresenta nenhum efeito em animais superiores ou humanos.

Apesar da existência de formulações comerciais de inseticidas à base de *B. thuringiensis* registradas para uso agrícola, como por exemplo Dipel, Baccontrol e Thuricide, tais formulações não têm sido muito utilizadas. Isso devido à difícil fixação das proteínas nas folhas e à sua degradação pela luz solar, o que reduz sua eficiência a campo, uma vez que as mesmas precisam ser ingeridas para atuar como inseticida.

6.3. Milho resistente a lagartas

Para resistência natural do milho a pragas, um grande esforço tem sido feito na avaliação de germoplasma e na seleção de cultivares resistentes. Os milhos amargos, do grupo antiga, foram registrados como resistentes à lagarta-do-cartucho. Entretanto, como a resistência é muito afetada pelas condições ambientais, pequenas diferenças podem não ser significativas quando a cultivar é usada em lavouras comerciais sem chance de escolha pelo inseto. Dentre os híbridos hoje plantados, pode-se observar algumas diferenças quanto a não-preferência da lagarta ou até mesmo antibiose (quando a ingestão das folhas causa anomalias ao metabolismo do inseto). O conhecimento de híbridos mais tolerantes à lagarta-do-cartucho pode ser aplicado no manejo da praga, mas é somente mais uma ferramenta.

O milho geneticamente modificado é uma nova tática de controle de pragas que consiste em plantas resistentes a insetos. Por meio de técnicas apuradas como a biobalística, foi introduzido um gene de *B. thuringiensis* (Bt) em plantas de milho.

Dessa maneira, o milho Bt adquire resistência a insetos pragas, que ao ingerirem as folhas se intoxicam e morrem. O gene introduzido codifica a expressão de proteínas Bt, com ação inseticida, efetiva no controle de lepidópteros como, por exemplo, a *S. frugiperda*, *D. saccharalis* e *H. zea*.

O milho transgênico já é cultivado ou comercializado em 14 países (Argentina, Austrália, Canadá, China, União Européia, Japão, Coreia, Filipinas, México, África do Sul, Suíça, Taiwan, Uruguai e Estados Unidos da América).

A expressão da toxina pode variar de acordo com a parte da planta observada e com o híbrido. Os níveis de expressão da proteína Cry1Ab (também chamada Bt, de *B. thuringiensis*) na linhagem MON810 foram avaliados em folhas jovens, grãos, planta toda e pólen. Os resultados observados evidenciaram os maiores níveis de expressão nas folhas (9,35 $\mu\text{g/g}$ de peso seco), seguidos pela planta toda (4,31 $\mu\text{g/g}$ de peso seco), grãos (0,31 $\mu\text{g/g}$ de peso seco) e pólen (0,09 $\mu\text{g/g}$ de peso seco).

As lagartas ao se alimentarem do tecido foliar do milho geneticamente modificado, ingerem esta proteína, que atua nas células epiteliais causando desequilíbrio osmótico das células, o que conduz à desintegração do mesêntero, levando o inseto à morte.

A proteína Bt tem por objetivo evitar perdas de rendimento causadas por pragas específicas. A escolha e utilização de híbridos de milho contendo genes codificadores de entomotoxinas de Bt para uso em MIP, em uma determinada área, depende de vários aspectos importantes a considerar, como:

- (I) o sistema de produção utilizado, o nível de produtividade e retorno econômico esperado;
- (II) a(s) principal(is) praga(s) que pode (m) prejudicar a(s) lavoura(s);
- (III) o potencial de infestação da(s) mesma(s);
- (IV) os métodos disponíveis para o controle;
- (V) alcançar a maior eficiência econômica.

Sabe-se que o uso amplo e indiscriminado de um mesmo genótipo não é recomendável devido ao problema de uniformização genética. Da mesma forma que para inseticidas químicos usados continuamente em áreas geográficas determinadas, populações de campo são capazes de desenvolver resistência.

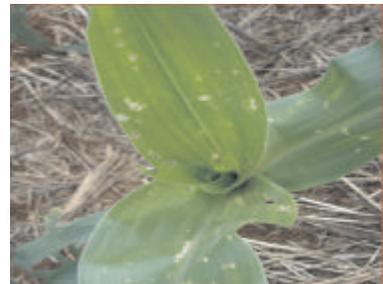
Atualmente, em algumas situações, mesmo nas lavouras cultivadas com o milho transgênico tem sido observado a necessidade da adoção de medidas adicionais para o controle da lagarta-do-cartucho.

Isso está baseado em três pontos principais: interações genéticas (alguns híbridos são mais susceptíveis ao ataque da lagarta, sendo preferidos pela praga), pressão (frequência e intensidade) da praga e no nível tecnológico do produtor.

6.4. Plano de amostragem e manejo de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt

O controle eficiente de pragas é totalmente dependente do entendimento e da utilização de um conjunto de medidas, sendo que estimativas precisas da abundância de uma praga são primordiais no desenvolvimento do manejo integrado de pragas (MIP); dentro do qual se pode incluir o momento apropriado de utilização de práticas de controle, quando as populações alcançam o nível de dano.

Quando se utiliza a tecnologia Bt, o monitoramento de pragas também se faz necessário. Alguns híbridos podem apresentar expressões menores de toxina em determinadas situações como em períodos de estiagem e altas temperaturas, ou menores expressões em partes distintas da planta, como folhas, colmo e espigas. Isto pode facilitar o ataque de pragas, que quando se encontram em alta infestação, podem causar danos também a híbridos Bt. Para que o híbrido possa expressar todo o seu potencial, recomenda-se a aplicação de inseticidas como medida adicional de controle, quando 20% das plantas atingirem **Nota de Dano 4**, segundo escala de Davis et al. (1992), conforme Figura 6.3. Essa escala é baseada nos danos causados ao cartucho do milho definido por folhas jovens (folhas enroladas) mais a folha basal não estendida. O conhecimento da escala de danos e o monitoramento contínuo são essenciais para o bom uso da tecnologia.

Escala de injúrias para *Spodoptera frugiperda* no cartucho do milho**Nota 0:** Cartucho sem injúria.**Nota 1:** Cartucho com pontuações.**Nota 2:** Cartucho com pontuações, 1 a 3 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm).**Nota 3:** Cartucho com 1 a 5 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm) + 1 a 3 lesões alongadas (até 1,5 cm).**Nota 4:** Planta com 1 a 5 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm) + 1 a 3 lesões alongadas (entre 1,5 e 3 cm) + pequenos furos circulares (até 0,5 cm).**Nota 5:** Cartucho com 1 a 3 lesões alongadas grandes (> 3 cm) em 1 a 2 folhas + 1 a 5 furos ou lesões alongadas (até 1,5 cm).**Nota 6:** Cartucho com 1 a 3 lesões alongadas grandes (> 3 cm) em 2 ou mais folhas + furos + 1 a 3 furos grandes (> 1,5 cm) em 2 ou mais folhas.**Nota 7:** Cartucho com 3 a 5 lesões alongadas grandes (> 3,5 cm) em 2 ou mais folhas + furos + 3 a 5 furos grandes (> 1,5 cm) em 2 ou mais folhas.**Nota 8:** Cartucho com muitas lesões alongadas (mais de 5) de todos os tamanhos na maioria das folhas + furos. Muitos furos médios a grandes (mais de 5) maior que 3 cm.**Nota 9:** Cartucho quase totalmente destruído (somando-se à injúria das notas 7 e 8).Figura 6.3. Escala de injúrias para *Spodoptera frugiperda* no cartucho do milho. Fonte: Adaptado de Davis et al., 1992.

6.5. Eficiência do controle de *S. frugiperda* em milho Bt

Na safra 2008/09, foram instalados dois experimentos (em Maracaju e Sonora), objetivando testar a eficiência de híbridos Bt no controle de *S. frugiperda*. Testou-se também a necessidade de se fazer aplicações de inseticidas para o controle da praga nestes híbridos. Foram utilizados 7 híbridos Bt e suas isolíneas convencionais (híbridos com a mesma carga genética, sem o gene Bt), perfazendo 14 híbridos, com e sem aplicações de inseticidas. Os híbridos testados foram: AG7000, AG7000YG, DKB350, DKB350YG, DKB390, DKB390YG, AG8088, AG8088YG, AS1551, AS1551YG, P30F80, P30F80YG, IMPACTO e IMPACTOTL. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 5 repetições em esquema fatorial 14 x 2 (onde 14 são os híbridos testados e 2 parcelas aplicadas e não aplicadas) perfazendo 28 tratamentos. Realizou-se avaliações visuais de dano, seguindo a escala de Davis (1992), nos estádios de V5/V6 e V8.

Nestes ensaios, observou-se que, para alguns híbridos, há grandes variações no comportamento entre o material Bt e sua isolínea convencional quanto ao porte da planta (Figura 6.4). Essa diferença se torna bem menos aparente quando realizada a aplicação de inseticidas. Para outros, essa diferença é bem menos acentuada, havendo diferença apenas nos danos ocasionados pela praga, mesmo nas parcelas não aplicadas. Há também diferenças quanto à eficiência de controle entre os híbridos Bt, o que reforça a necessidade do monitoramento contínuo. Observou-se também a presença da lagarta, inclusive de terceiro instar em plantas de milho Bt, o que indica que a tecnologia não elimina a população-praga, que em altas infestações, pode causar danos.



Figura 6.4. Diferença de porte entre híbridos Bt e convencionais em ensaio conduzido na região de Maracaju/MS. FUNDAÇÃO MS, 2009.

Os híbridos transgênicos testados demonstraram ser eficientes no controle de *S. frugiperda*, mantendo a população da praga-alvo em baixa incidência e severidade de danos abaixo do Nível de Controle (Figura 6.5). Após colheita, as produtividades também serão comparadas.



Figura 6.5. a) Milho Bt no estágio fenológico V5, em ensaio realizado em Maracaju; b) Milho convencional no estágio fenológico V5, em ensaio realizado em Maracaju; c) Milho Bt no estágio fenológico de pré-pendoamento, em ensaio realizado em Sonora; d) Milho convencional, no estágio fenológico de pré-pendoamento, em ensaio realizado em Sonora/MS. FUNDAÇÃO MS, 2009.

6.6. Outras pragas alvo

Além do controle da lagarta-do-cartucho, os híbridos de milho Bt portadores da proteína Cry1Ab exercem controle sobre a broca do colmo (*D. saccharalis*) e supressão sobre a lagarta das espigas (*H. zea*). Esta, cujo adulto deposita seus ovos nos estilo-estigmas, ingere a toxina ao se alimentar na ponta das espigas, causando mortalidade e reduzindo os danos nos grãos, o que proporciona maior sanidade dos mesmos, reduzindo a incidência de patógenos oportunistas. Já a broca do colmo ingere o tecido da bainha/colmo, ingerindo também quantidades suficientes da proteína Bt para causar mortalidade, antes que a lagarta consiga penetrar, protegendo a planta, evitando assim o seu quebraimento e melhorando a qualidade do colmo, o que pode se reverter em melhor desempenho do híbrido.

6.7. Insetos não alvo

Híbridos com a tecnologia Bt, aqui mencionados, não exercem controle sobre corós, larva-alfinete, lagarta-elasma, percevejos, cigarrinhas, tripes e pulgões. Portanto, a utilização da tecnologia não elimina o tratamento de sementes com inseticidas recomendados para a cultura. Da mesma forma, aplicações foliares para controle de algumas destas pragas podem se fazer necessárias.

Quanto aos inimigos naturais, não há relatos de altos índices de mortalidade dos mesmos em culturas geneticamente modificadas, quando comparados às culturas convencionais.

É importante salientar que os tratamentos culturais com plantas daninhas e doenças devem ser realizados normalmente, objetivando fornecer condições mais próximas das ideais para o bom estabelecimento e desenvolvimento da cultura.

6.8. Normas para o plantio

Área de refúgio

As áreas de refúgio têm por objetivo reduzir o potencial de evolução do processo de resistência de insetos alvo da tecnologia Bt. Desta maneira, tais áreas devem ser suficientemente atraentes para a oviposição da praga-alvo, servindo assim como reservatório de insetos suscetíveis. No Brasil é recomendada a adoção da área de refúgio de, no mínimo, 10% da área plantada, a qual deverá estar presente, no máximo, a distância de 1.500 metros de lavoura Bt.

As áreas de refúgio deverão ser cultivadas com milho convencional, de preferência com híbrido de desenvolvimento fenológico similar, ou seja, de mesmo ciclo e plantado na mesma época que o híbrido Bt. É permitido o controle químico na área de refúgio, desde que não utilizados produtos à base de *B. thuringiensis*. Cada propriedade deve conter sua própria área refúgio.

A disposição da área de refúgio pode ser feita conforme a Figura 6.6. Não é recomendado mistura de sementes de milho convencional com sementes transgênicas.

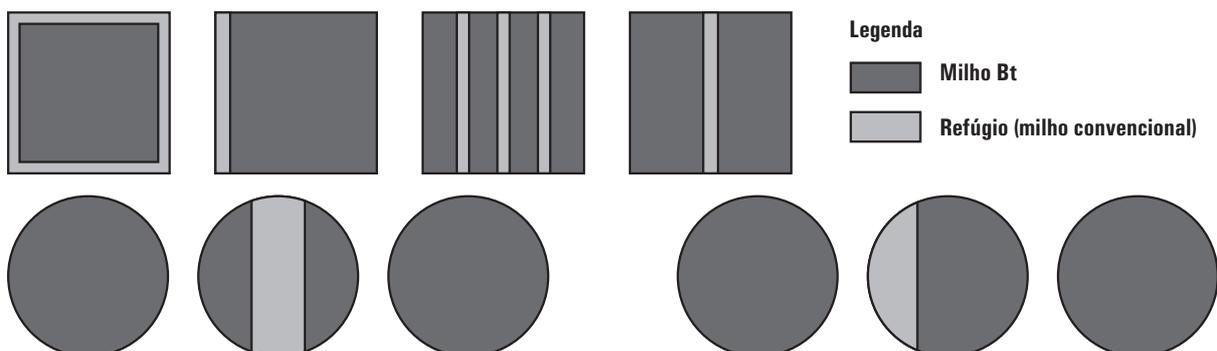


Figura 6.6. Opções de plantio de refúgio dentro do lote. Fonte: Adaptado de ABRASEM, 2008.

Coexistência

A CTNBio determinou através da sua Resolução Normativa número 4, de 16 de agosto de 2007, as chamadas Normas de Coexistência. Esta Resolução Normativa dispõe sobre as distâncias mínimas entre cultivos comerciais de milho geneticamente modificado e não geneticamente modificado em áreas vizinhas, visando à coexistência entre os sistemas de produção. É uma garantia de opção pelo uso da tecnologia.

Segundo estas normas, as lavouras de milho geneticamente modificado deverão ter uma distância de isolamento de 100 metros das lavouras de milho convencional de vizinhos ou 10 fileiras de milho convencional (sem o gene *Bt*) de mesma estatura ao seu redor, acrescidas de outros 20 metros de isolamento (Figura 6.7).

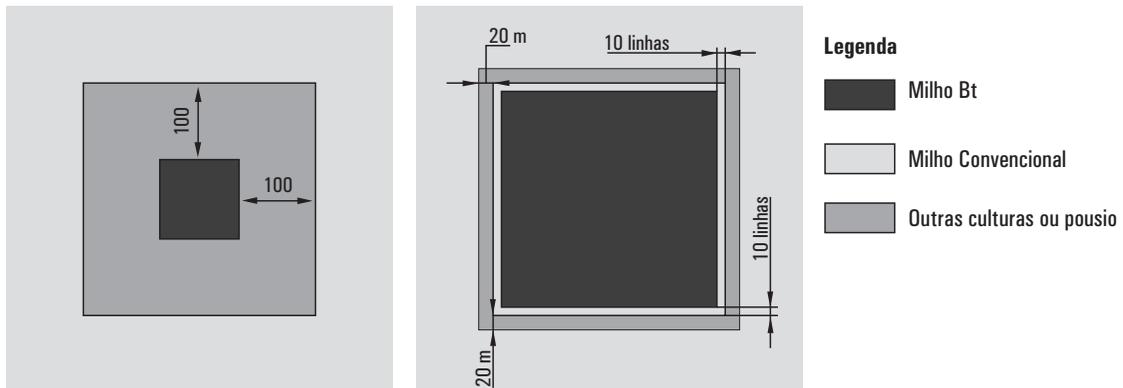


Figura 6.7. Opções de coexistência. Fonte: Adaptado de ABRASEM, 2008.

Restrição quanto ao local de plantio

Conforme estabelecido no art. 1º da Lei 11.460, de 21 de março de 2007, "ficam vedados a pesquisa e o cultivo de organismos geneticamente modificados nas terras indígenas e áreas de unidades de conservação, exceto nas Áreas de Proteção Ambiental".

Da responsabilidade civil e administrativa

Segundo o art. 21 da Lei 11.105, de 24 de março de 2005, "considera-se infração administrativa toda ação ou omissão que viole as normas previstas nesta Lei e demais disposições legais pertinentes.

Parágrafo único. As infrações administrativas serão punidas na forma estabelecida no regulamento desta Lei, independentemente das medidas cautelares de apreensão de produtos, suspensão de venda de produto e embargos de atividades, com as seguintes sanções:

- I – advertência;
- II – multa;
- III – apreensão de OGM e seus derivados;
- IV – suspensão da venda de OGM e seus derivados;
- V – embargo da atividade;
- VI – interdição parcial ou total do estabelecimento, atividade ou empreendimento;
- VII – suspensão de registro, licença ou autorização;
- VIII – cancelamento de registro, licença ou autorização;
- IX – perda ou restrição de incentivo e benefício fiscal concedidos pelo governo;
- X – perda ou suspensão da participação em linha de financiamento em estabelecimento oficial de crédito;
- XI – intervenção no estabelecimento;
- XII – proibição de contratar com a administração pública, por período de até 5 (cinco) anos.

Art. 22. Compete aos órgãos e entidades de registro e fiscalização, referidos no art. 16 desta Lei, definir critérios, valores e aplicar multas de R\$ 2.000,00 (dois mil reais) a R\$ 1.500.000,00 (um milhão e quinhentos mil reais), proporcionalmente à gravidade da infração.

§ 1º As multas poderão ser aplicadas cumulativamente com as demais sanções previstas neste artigo.

§ 2º No caso de reincidência, a multa será aplicada em dobro.

§ 3º No caso de infração continuada, caracterizada pela permanência da ação ou omissão inicialmente punida, será a respectiva penalidade aplicada diariamente até cessar sua causa, sem prejuízo da paralisação imediata da atividade ou da interdição do laboratório ou da instituição ou empresa responsável”.

Dos crimes e das penas

Art. 27. Liberar ou descartar OGM no meio ambiente, em desacordo com as normas estabelecidas pela CTNBio e pelos órgãos e entidades de registro e fiscalização: Pena – reclusão, de 1 (um) a 4 (quatro) anos, e multa.

Art. 29. Produzir, armazenar, transportar, comercializar, importar ou exportar OGM ou seus derivados, sem autorização ou em desacordo com as normas estabelecidas pela CTNBio e pelos órgãos e entidades de registro e fiscalização: Pena – reclusão, de 1 (um) a 2 (dois) anos, e multa.

6.9. Desenvolvimento da resistência

Aplicações sucessivas de produtos com o mesmo modo de ação, ou utilização da tecnologia Bt sem os devidos cuidados provoca pressão de seleção no decorrer dos anos. Dentro de uma população de pragas, existe uma pequena porcentagem de indivíduos geneticamente resistentes ao produto utilizado (Figura 6.8). A utilização sequencial de produtos de um mesmo modo de ação seleciona estes indivíduos resistentes. Estes indivíduos se reproduzem, podendo gerar descendentes também resistentes. Isto pode ocasionar perda do ingrediente ativo ou da tecnologia ali empregada. Portanto, é necessário se rotacionar os modos de ação de inseticidas, o que também deve ser empregado quando se utiliza a tecnologia Bt.

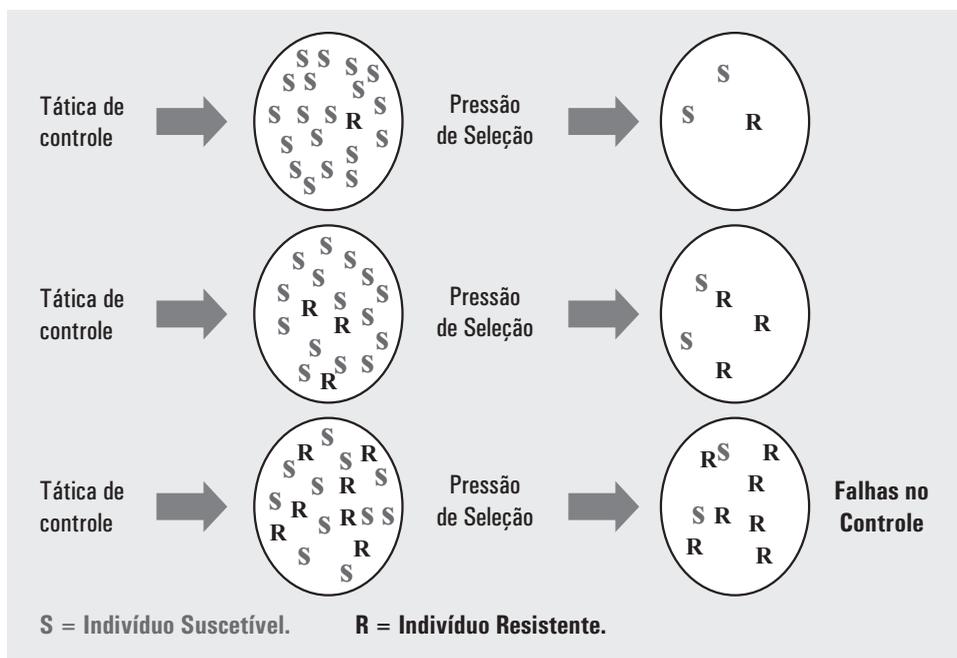


Figura 6.8. Desenvolvimento de resistência.

6.10. Herança da resistência

A herança da resistência ocorre quando do cruzamento entre indivíduos resistentes, tem-se uma prole também resistente (Figura 6.9). Essa carga genética vai se transmitindo por várias gerações da praga, até que se tenha a maioria dos indivíduos resistentes. Vem daí a importância das áreas refúgio, que servem como reservatório de indivíduos suscetíveis. Estes poderão cruzar com indivíduos resistentes, gerando na maioria dos casos, indivíduos suscetíveis. Isto reduz as chances e o tempo de evolução dos indivíduos para uma possível resistência.

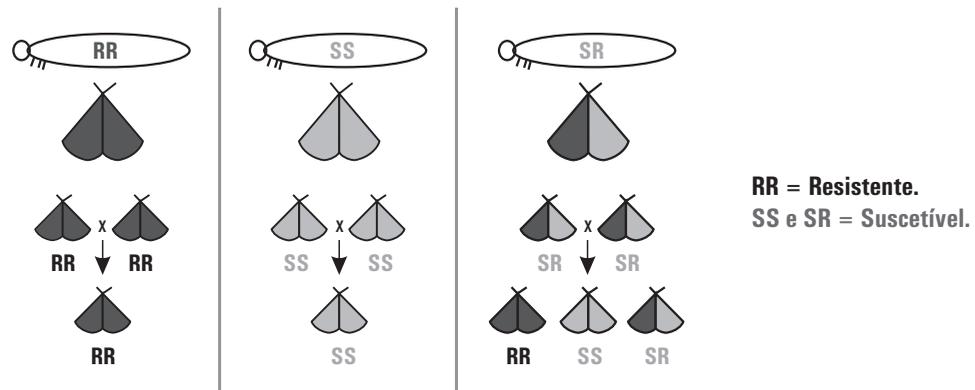


Figura 6.9. Herança da resistência.

6.11. Considerações finais

A primeira geração da tecnologia Bt, hoje encontrada no mercado, é apenas o início de uma série de outras que trarão benefícios no controle de pragas e em outras áreas da agricultura. Essa tecnologia é altamente dependente da utilização correta, respeito às normas técnicas e a legislação vigente. Do respeito às recomendações, depende a preservação dos benefícios do milho Bt e de outros avanços que virão.

Da mesma forma, o bom senso também é necessário, no momento da aquisição do híbrido, sempre buscando as melhores relações de custo/benefício, haja vista os custos da tecnologia. Deve-se também continuar buscando híbridos com bons potenciais produtivos e outras características agrônomicas desejáveis, como sanidade e baixo quebramento e acamamento. Portanto, a utilização de organismos geneticamente modificados deve ser encarada como mais uma alternativa, dentro de um sistema de manejo, e o bom uso destes organismos é a chave para o sucesso da tecnologia.

6.12. Referências bibliográficas

- DAVIS, F. M.; NG, S. S.; WILLIAMS, W. P. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi: Agricultural and Forest Experiment Station, 1992. 9p. (Technical Bulletin, 186).
- ABRASEM. Associação Brasileira de Sementes e Mudras. Manejo de Resistência de Insetos. Plante Refúgio. Setembro, 2008.