

Campus  
Sudeste  
UnU - Ipameri



Universidade  
Estadual de Goiás



ESTADO  
DE GOIÁS



**Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

**INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE POTÁSSIO E  
NITROGÊNIO E GENES *Bt* SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO**

**MARCELO MACEDO FARIA**

**MESTRADO**

**Ipameri-GO  
2022**

**MARCELO MACEDO FARIA**

**INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE POTÁSSIO E  
NITROGÊNIO E GENES *Bt* SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO**

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Rodrigues

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Unidade Universitária de Ipameri como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal para obtenção do título de MESTRE.

Ipameri  
2022

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FF224 FARIA , MARCELO MACEDO  
i INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE POTÁSSIO E  
NITROGÊNIO E GENES Bt SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO /  
MARCELO MACEDO FARIA ; orientador FABRICIO RODRIGUES .  
-- IPAMERI, 2022.  
63 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação  
Mestrado Acadêmico em Produção Vegetal) -- Unidade de  
Ipameri, Universidade Estadual de Goiás, 2022.

1. Milho. 2. Zea mays L.. 3. transgênicos. I.  
RODRIGUES , FABRICIO, orient. II. Título.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** “INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE POTÁSSIO E NITROGÊNIO E GENES *Bt* SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO”

**AUTOR(A):** Marcelo Macedo Faria

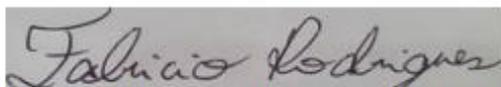
**ORIENTADOR(A):** Fabrício Rodrigues

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE(A) EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:



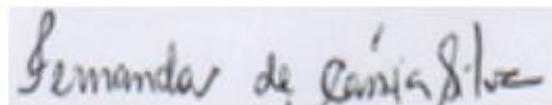
Prof. Dr. Nei Peixoto

Universidade Estadual de Goiás/Unidade Universitária Ipameri-GO



Prof. Dr. Fabrício Rodrigues (Orientador)

Universidade Estadual de Goiás/Unidade Universitária Ipameri-GO



Prof.ª Dr.ª Fernanda de Cássia Silva

EMATER Goiânia-GO

### Registro de Declaração

Número: 154

Livro: R-01 Folhas: 03

Data: 26/02/2022



Data da realização: 26 de fevereiro de 2022

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por sua benção e condução. Sou grato a minha mãe, Gláucia, por suas orações diárias, incentivos e conselhos, e a toda minha família que sempre torcem por mim. A Carol que sempre me motiva, torce e vibra por minhas conquistas. Ao Fabrício, grande mestre, que compartilhou sua orientação comigo neste trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	9
1.1 A cultura do milho.....	9
1.2 Adubação nitrogenada.....	10
1.3 Adubação potássica.....	11
1.4 Lagarta <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	12
1.5 Genes <i>Bt</i> .....	14
1.6 Genes e adubações de N e K.....	15
2. CAPÍTULO 1. ANÁLISE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE POTÁSSIO E GENES <i>Bt</i> SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO.....	17
3. CAPÍTULO 2. INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO E GENES <i>Bt</i> SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO.....	38
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
5. REFERÊNCIAS.....	60

## RESUMO

A cultura do milho exhibe grande importância social e econômica mundialmente, por ser uma das principais espécies agrícolas, assim, novas alternativas e tecnologias vêm sendo estudadas para melhorar a produtividade e as condições ambientais. Nestas tecnologias englobam-se o uso de adubação nitrogenada e potássica e cultivares contendo genes *Bt*. O uso de biotecnologia auxilia no desenvolvimento de genes que codificam proteínas com atividade inseticida e auxiliam no manejo integrado de pragas, enquanto as adubações exibem função de melhorar o desenvolvimento da planta e incrementos nos teores nutricionais. O objetivo dos trabalhos foram identificar o efeito das doses de potássio e nitrogênio sobre a resistência transgênica *Bt*, com base dano causado em híbridos de milho. Os experimentos foram desenvolvidos na Universidade Estadual de Goiás, localizada no município de Ipameri, na safra de verão de 2014/15 e 2015/16. No experimento do potássio foi utilizado o delineamento de blocos casualizados, no arranjo fatorial (3 x 6), três doses de potássio (0, 45 e 90 kg ha<sup>-1</sup>) e seis híbridos de milho [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) e F. (NS92VTPro)], com três repetições. No experimento de nitrogênio foi utilizado o delineamento de blocos casualizados, em arranjo fatorial (3 x 6), três doses de nitrogênio (0, 80 e 160 kg ha<sup>-1</sup>) e com os mesmos seis híbridos de milho, com três repetições. A utilização de diferentes doses de nitrogênio e de potássio não demonstraram interferência nas cultivares com relação ao ataque de lagartas *Spodoptera frugiperda*. Os híbridos que expressam as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 de forma combinada, aliada ou não à proteína Cry1F, obtiveram melhor desempenho no controle de lagartas, porém a proteína Cry1F isolada não proporcionou controle efetivo.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., transgênicos, produtividade e multivariada.

## ABSTRACT

The corn crop exhibits great social and economic importance worldwide, as it is one of the main agricultural species, thus, new alternatives and technologies have been studied to improve productivity and environmental conditions. These technologies include the use of nitrogen and potassium fertilization and cultivars containing *Bt* genes. The use of biotechnology helps in the development of genes that codify proteins with insecticidal activity and help in the integrated management of pests, while fertilization exhibits a function of improving plant development and increases in nutritional levels. The objective of the work was to identify the effect of potassium and nitrogen doses on *Bt* transgenic resistance, based on the damage caused in maize hybrids. The experiments were carried out at the State University of Goiás, located in the municipality of Ipameri, in the 2014/15 and 2015/16 summer harvests. In the potassium experiment, a randomized block design was used, in a factorial arrangement (3 x 6), three doses of potassium (0, 45 and 90 kg ha<sup>-1</sup>) and six corn hybrids [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) and F. (NS92VTPro)], with three replications. In the nitrogen experiment, a randomized block design was used, in a factorial arrangement (3 x 6), three nitrogen rates (0, 80 and 160 kg ha<sup>-1</sup>) and with the same six corn hybrids, with three replications. The use of different doses of nitrogen and potassium showed no interference in the hybrids against the attack of *Spodoptera frugiperda* caterpillars. The hybrids that expressed the proteins Cry1A.105 and Cry2Ab2 in a combined way, allied or not to the protein Cry1F, obtained better performance in the control of caterpillars, however the isolated protein Cry1F did not provide effective control.

**Keywords:** *Zea mays* L., transgenics, productivity and multivariate

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 A cultura do milho

A cultura do milho destaca-se devido a sua importância social e econômica mundialmente, com a sua contribuição como fonte energética na alimentação humana e animal e na produção de biocombustíveis (SIMIONATO et al., 2020). O Brasil é o terceiro maior produtor do mundo, na safra de 2020/21 produziu 87 milhões de toneladas, em 19.931,9 mil hectares e produção média de 4.367 kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2021).

Adicionalmente, devido às condições climáticas favoráveis à cultura na primeira safra, (outubro a dezembro), que proporciona maior produtividade, no entanto, é na safrinha (janeiro a fevereiro), que se destaca em produção de grãos devido a maior disponibilidade de área para plantio (CONAB, 2021). Entretanto, o cultivo do milho é expandido por todo território brasileiro caracterizados por sistemas de monocultivo, rotação, consórcio e sucessão, devido a sua rusticidade e boa adaptabilidade a estresses hídricos e alterações climáticas inesperadas (CRESPO et al., 2021).

Devido a importância da cultura, é necessário o desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias para aumentar a produtividade, a qualidade da produção e, claro, com minimização dos custos (UCHOA et al., 2018). Dentre as principais perdas na cultura do milho, as causadas pelas pragas, principalmente as Lepidópteras, são de extrema importância. Neste grupo, destaca-se a *Spodoptera frugiperda*, popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, responsável por perdas significativas, caracterizadas por danos nos estágios vegetativos e reprodutivos da planta. Estas se situam enroladas principalmente em folhas novas, o que dificulta o seu controle (FACCI e GIOSA, 2020). Adicionalmente, uma das principais estratégias de controle é o uso da biotecnologia envolvendo genes dos *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) associada aos métodos do manejo integrado de pragas (MIP), proporcionando a inserção de genes da bactéria que codificam uma proteína *Bt*, com efeito inseticida e efetivos no controle (SOUSA et al., 2016).

Existem alguns estudos que demonstram a eficiência na sobrevivência e biomassa de *S. frugiperda* em tratamentos contendo tecnologia *Bt*, em homozigose genética, caracterizando uma alternativa para o aumento da expressão da proteína *Bt* e a redução da infestação no campo (SANTOS et al., 2020); aumento do desenvolvimento de predadores e diminuição da reprodução de ovos da praga (COCCO, 2019); eficácia com a adição de nutrientes no controle de adultos (FACCI e GIOSA, 2020), entre outros. Dessa forma, demonstra que associações de tecnologias e estratégias são capazes de diminuir a resistência do inseto no campo e obter um maior controle.

Além disso, o manejo adequado quanto as exigências nutricionais do milho são fundamentais para o sucesso da produção da cultura, sendo o cálcio, nitrogênio, enxofre e potássio de maiores relevâncias para atingir um bom desempenho agrônômico. O nitrogênio desempenha funções na estruturação da planta, no crescimento radicular e no desenvolvimento vegetativo, ocasionando ao milho o aumento do teor de clorofila, aumento da área foliar e biomassa da planta, translocando cerca de 70 a 77% aos grãos, proporcionando ganhos produtivos. Enquanto o potássio é elemento absorvido em maiores quantidades pelo milho, sendo que apenas, em média, 30% são exportados nos grãos, se caracteriza pelo crescimento da planta, formação dos frutos e auxilia na resistência a doenças fúngicas (COELHO, 2006).

Dessa forma, alguns estudos demonstram que o uso de adubação nitrogenada no milho proporcionou aumentos na altura de plantas e no índice de área foliar (CAMPELO et al., 2019); aumento dos teores produtivos (BASEN et al., 2020), entre outros. Entretanto, o uso de adubação potássica no milho proporcionou melhorias na altura das plantas, altura da inserção da primeira espiga e diâmetro do caule (DAVID et al., 2019); diminuição de doenças foliares e incrementos na produtividade (SILVA et al., 2018), entre outros efeitos benéficos

Contudo, apesar da cultura do milho já estar bem estabelecida em todas as partes do país, existem baixa rentabilidade e produtividade em algumas regiões que justificam pela falta de adoção e conhecimento de tecnologias provenientes as plantas. Dessa forma, evidencia a importância de avaliações do desempenho do milho e utilização do manejo correto podendo proporcionar redução nos custos produtivos, diminuição das resistências de pragas hospedeiras e aumento dos teores produtivos.

## **1.2 Adubação nitrogenada**

O crescimento do cultivo e a importância do milho mundialmente, aliado a questão ambiental voltado a preservação e conservação do meio ambiente, cresce a pressão pelo aumento de produtividade atrelada em não abrir novas áreas de cultivo (SILVA JUNIOR, 2020). Dentre as principais técnicas de adubação o nitrogênio é o nutriente mais importante requerido pelo milho, devido à alta relação com a redução da planta e nos componentes de rendimento (WANG et al., 2017).

O nitrogênio está presente em todas as funções vitais, responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento das plantas e auxilia na produção e síntese de aminoácidos (SOUSA et al., 2021). As plantas absorvem o N na forma nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ) e/ou amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), entretanto, no solo a forma orgânica é predominante (mais de 95% do N total), devido à presença na

matéria orgânica como constituinte de diferentes moléculas com variados graus de recalcitrância, ou como parte de organismos vivos, logo, as frações inorgânicas, compostas por  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  e nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) estão presentes em pequenas concentrações (BASEN et al., 2020).

As recomendações do uso de adubação nitrogenada são devido ao teor de matéria orgânica no solo, da cultura antecessora, da expectativa do produtor quanto ao rendimento dos grãos, tipo de cobertura de solo e pela intensidade dos processos de imobilização e mineralização (MIOZZO, 2017). Adicionalmente, é recomendado que a cobertura nitrogenada seja realizada entre os estádios V<sub>4</sub> e V<sub>8</sub>, que proporciona maior absorção do nutriente pela planta (KUNESKI et al., 2017). Dessa forma, é importante ressaltar que o excesso pode acarretar a redução de produção, contaminação do meio ambiente e no favorecimento de incidências de pragas (FACCI e GIOSA, 2020).

Contudo, existem diversos trabalhos que demonstram a eficiência da adubação nitrogenada, pois, favorece o rendimento dos grãos (KUNESKI et al., 2017); o aumento da altura de plantas, diâmetro do colmo, comprimento e massa seca da espiga e na massa de grãos (ROCKENBACH et al., 2017); aumento no comprimento e número de fileiras por espiga, número de grãos por fileiras e na produtividade dos grãos (NETTO et al., 2021), entre outros. Para a cultura do milho é imprescindível traçar alternativas e estratégias que maximizem o efeito do nitrogênio no rendimento dos grãos e na eficiência do seu uso, evitando perdas e excesso para não prejudicar o meio ambiente e onerar os custos produtivos.

### **1.3 Adubação Potássica**

O potássio é caracterizado pelo desempenho em diversos processos fisiológicos da planta, como ativação enzimática, transporte de fotoassimilados e principalmente na atividade fotossintética, além disso, desempenha excelente papel como proteção às plantas de ataque de fitopatógenos (UCHOA et al., 2018b). Adicionalmente, é o segundo nutriente mais requerido pela cultura do milho, cerca de 30% são absorvidos pelo grão, apresenta uma alta mobilidade na planta e sua assimilação ocorre principalmente nos estágios iniciais, quando as plantas acumulam 50% de matéria seca por volta dos 60 dias (MORAIS et al., 2018).

O nutriente apresenta-se no tecido da planta predominantemente na forma iônica  $\text{K}^+$ , em que, a maior parte é ciclada, retornando ao solo após a colheita. Contudo, a elevação de potássio no solo pode desencadear o desbalanceamento de outros nutrientes na planta, comprometendo os teores produtivos. Dessa forma, é importante considerar as inter-relações

entre os íons de potássio, cálcio e magnésio, pois o excesso pode causar prejuízos ao milho (BEBÉ et al., 2009).

Estudos com o potássio vêm desempenhando diversos resultados positivos, tais como, diminuição da severidade de doenças (*Phaesphaeria maydis*, *Cercospora zae-maydis* e *Exserohilum turicum*) no milho (SILVA et al., 2018); proporcionou incrementos nas características morfológicas e produtividade de grãos do milho (PACHECO et al., 2021); influenciou positivamente no comprimento da espiga, diâmetro da espiga, número de fileiras dos grãos e na elevação da produtividade (PEREIRA et al., 2020), entre outros. Dessa forma, a utilização correta do manejo à cultura do milho, e a associação de tecnologias demonstram aumentos nos rendimentos dos do milho e na disponibilidade de nutrientes, principalmente N e K (HENTZ et al., 2016).

Sendo assim, o melhor aproveitamento de tais tecnologias é essencial como uma alternativa de melhoras para o meio ambiente, devido a reciclagem de nutrientes no solo-planta e no desempenho agrônômico das plantas, no aumento de produtividade e na diminuição dos custos produtivos, já que essas tecnologias são que elevam os custos ao produtor.

#### **1.4 Lagarta *Spodoptera frugiperda***

No decorrer dos anos, a cultura do milho no Brasil demonstra significativa melhora nas tecnologias empregadas ao seu manejo, refletindo em incrementos na produtividade. Contudo, fatores bióticos, entre os quais caracteriza o aumento de pragas, têm interferido no comportamento dos híbridos em todas as regiões do país (TRINDADE et al., 2017). A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) é considerada a principal praga do milho, a qual se encontra desde a fase inicial até o pendoamento e formação das espigas de milho, e em expressivas densidades é capaz de promover a destruição do cartucho e causar danos expressivos à cultura (LIMA JUNIOR et al., 2012).

A lagarta-do-cartucho pertence à ordem Lepidóptera, caracteriza-se por ter um ciclo de cinco fases (Figura 1), as posturas dos ovos são realizadas nas folhas de milho durante o período noturno, em que, as lagartas eclodem em três a cinco dias (CRESPO et al., 2021). As lagartas recém-eclodidas são esbranquiçadas, possuem cabeça mais larga do que o corpo e apresentam mais pelos que as mais velhas. No primeiro ínstar as lagartas medem 1,9 mm de comprimento, enquanto as larvas de último, 13º ínstar têm o corpo cilíndrico, de coloração marrom-acinzentada no dorso com duração de 12 a 30 dias (CHAVEIRO JUNIOR, 2018).



**Figura 1.** Ciclo de vida da lagarta-do-cartucho. Fonte: CRESPO et al., 2021.

Os sintomas do ataque são observados com o surgimento das primeiras folhas do milho, em que, após a eclosão dos ovos, as lagartas começam a se alimentar raspando os tecidos verdes de um lado da folha, deixando intacta a epiderme membranosa oposta, gerando um sistema nomeado como “folha raspada”. As lagartas desenvolvidas dirigem-se para o interior do cartucho causando buracos nas folhas, causando destruição total e morte das plantas (UCHOA et al., 2018a). Estas são responsáveis por cerca de 17 a 38% de perdas na produção do milho (CRESPO et al., 2021).

Para o adequado manejo da lagarta é necessário o conhecimento de sua distribuição espacial para maximizar a utilização de diferentes táticas de controle (TRINDADE et al., 2017). Dentre as principais formas de controle caracteriza-se a utilização de cultivares geneticamente modificadas com a inserção do gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), no entanto, devido as falhas do manejo comprometem a eficiência desta tecnologia (SIMIONATO et al., 2020).

Adicionalmente, outro método de controle caracteriza-se pelo controle químico, que apesar de ser rápido e eficaz, o manejo incorreto no decorrer dos anos promove populações de pragas resistentes e o aparecimento de novas pragas, além de ocasionar a morte dos inimigos naturais e a conversão de pragas secundárias em pragas primárias (UCHOA et al., 2018a). Além disso, caracteriza-se o uso de inseticidas biológicos que são compostos de metabólitos de origem animal ou vegetal e são responsáveis pela defesa química das plantas, estes produtos apesar de serem eficientes ao ataque das pragas e ao meio ambiente necessitam de maiores estudos e grandes formulações comerciais (CRESPO et al., 2021).

Contudo, o manejo alternativo utilizado de forma adequada e correta evidencia objetivos eficazes no controle da principal praga do milho. Portanto, o uso dessas tecnologias associadas em junções de métodos e controle alternativos proporciona a preservação da

tecnologia, novas táticas de controle, aumento do teor de eficiência e minimização os custos produtivos.

### 1.5 Genes *Bt*

A utilização de plantas transgênicas vem crescendo nos últimos anos mundialmente, e com potencial de expansão em razão aos benefícios aos sistemas produtivos e ao meio ambiente. O Brasil ocupa o segundo lugar em área plantada com essa tecnologia (SANTANA et al., 2017). A biotecnologia desenvolve genes que codificam proteínas *Bt* de *Bacillus thuringiensis* propiciando atividade inseticida, e se tornando uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas (TRINDADE et al., 2017). Dentre as principais espécies de plantas que expressam esse tipo de proteínas destacam-se as culturas do milho, algodão, soja e canola (MENDES et al., 2009).

Os primeiros cultivos no Brasil com a utilização desta tecnologia ocorreram na safra de 2009/2010, com o milho expressando a proteína Cry1Ab. Na safra posterior, a cultura do milho expressava diferentes proteínas para o controle de lagartas, como a Cry1F e Cry1A105+Cry2Ab2, atualmente este gene está inserido em diversos híbridos comerciais (MENDES et al., 2011). Tais proteínas são caracterizadas pelo controle de lagartas desfolhadoras, principalmente a principal praga do milho a lagarta-do-cartucho (SANTANA et al., 2017).

Existem dois grupos principais de tecnologia *Bt*, em que um as proteínas produzidas na fase de esporulação, que compreende as proteínas cristalizadas (Cry) e citolíticas (Cyt) e o segundo grupo as proteínas são sintetizadas durante a fase do crescimento vegetativo proporcionando as inseticidas vegetativas (Vip) e secretadas (Sip) (COCCO, 2019). O controle da praga ocorre através da ingestão das toxinas *Bt*, em que, inicialmente não possui mecanismo de ação tóxico, são ativadas posteriormente à liberação do seu núcleo ativo que ocorre durante sua lise, na ingestão do inseto e submissão a condições alcalinas presentes no seu tubo digestivo. Adicionalmente, na parede intestinal do inseto contém receptores específicos para as toxinas, que ao se ligarem, inibem a ingestão e a absorção de nutrientes, causando a ruptura do tubo digestivo e a morte do inseto (TAVARES et al., 2017).

Contudo, a opção e utilização desta tecnologia depende de vários aspectos importantes que devem ser considerados tais como, o sistema de produção utilizado e o nível de produtividade e retorno econômico esperado; a(s) principal(is) praga(s) que pode(m) prejudicar a(s) lavoura(s); o potencial de infestação da(s) mesma(s); os métodos disponíveis para o controle; e alcançar a maior eficiência econômica (SOUSA FILHO, 2021). Além disso,

é necessário atrelar outras formas de manejo para garantir a eficiência da mesma, como o plantio de áreas de refúgios, utilização de dosagens e épocas de aplicação de produtos fitossanitários, manejo correto de adubações e a necessidade de regulamentação de leis que vise intensificar as medidas educacionais sobre a produção da cultura do milho (RESENDE et al., 2014).

Diversos estudos demonstram a eficiência desta tecnologia, Trindade et al. (2017), demonstraram que o uso de cultivar *Bt* poucas amostragens atingiram número significativo de lagartas *S. frugiperda* para teste de densidade especial, indicando que o milho geneticamente modificado é resistente a insetos proporcionando resistência a principal praga da cultura. Adicionalmente, Santana et al. (2017) concluíram que a utilização de tecnologia *Bt*, que expressa a tecnologia CryA1c, não interfere na biologia e na capacidade de reprodução do predador *P. nigrispinus*, além de auxiliar no controle da lagarta *S. frugiperda*.

A utilização de cultivares *Bt* proporciona a diminuição dos custos com aplicações fitossanitárias, facilita o manejo, exibe uma menor exposição aos produtos fitossanitários e conseqüentemente, uma melhora no meio ambiente e aumenta os teores produtivos de forma sustentável. Portanto, é necessário contribuir com as práticas de manejo no intuito de prolongar a vida útil desta tecnologia nas lavouras.

## 1.6 Genes e adubações de N e K

Os sistemas produtivos mundialmente se caracterizam em monocultivos ou sucessões de culturas de maior rentabilidade, destacando-se o milho. Tais sistemas são frágeis levando em consideração a sustentabilidade atribuída nos setores produtivos atualmente. Dessa forma, a utilização de técnicas ou a junção delas devem visar minimizar o impacto no sistema agropecuário, principalmente com o uso indevido e exagerado de fertilizantes e o mau uso de tecnologias de ponta inseridas em genes na semente (GUIMARÃES et al., 2021).

A crescente preocupação com o meio ambiente, proveniente principalmente do manejo inadequado de adubações e tecnologias, estabelece a busca de sistema de manejo que resultem em um maior aproveitamento para a cultura do milho. Entre as alternativas consiste na junção de genótipos de milho eficientes, produtivos e que permitam maior rentabilidade, levando em conta a intensificação dos nutrientes pela cultura, em um menor custo/benefício e menor impacto ambiental (SANTOS et al., 2018).

Os genes *Bt* proporciona a defesa da planta através do modo de ação de proteínas inseticidas que podem levar à resistência, a intoxicação inclui o processamento de um núcleo de toxina ativada por proteases do intestino médio, ligado a receptores na membrana da borda

das células, resultando na morte da praga por choque osmótico (BANERJEE et al., 2017). O nitrogênio é o elemento mais requerido pelo milho, desempenha importante papel no aumento dos teores produtivos (PORTUGAL et al., 2017). Enquanto, o potássio é o segundo nutriente mais requerido pela cultura, responsável pela síntese e metabolismo de carboidratos, como fotossíntese e a respiração, formação dos grãos, e translocação de metais pesados (GOMES, 2018).

Alguns trabalhos demonstram a eficiência de diversas tecnologias inseridas em um só cultivo, tais como, a seleção e agrupamento de genótipos manejados com adubação nitrogenada melhoraram as características fenotípicas do milho, gerando genótipos mais produtivos e divergentes que auxiliam em possíveis novas combinações (BERTASELLO et al., 2020); a inserção de híbrido geneticamente modificado com a adubação potássica proporcionou incrementos no volume da raiz e no arranque inicial da emergência do milho (MELO e CASIMIR, 2017); entre outros. A combinação de manejo adequado para a cultura do milho resulta no aumento do potencial dos híbridos atuais, além de melhores incrementos produtivos, aumento da rentabilidade e diminuição dos custos e a intensificação de melhorias ao meio ambiente, tornando uma prática mais sustentável.

**CAPÍTULO 1****ANÁLISE DA INTER-RELAÇÃO ENTRE DIFERENTES DOSES DE  
POTÁSSIO E GENES *Bt* SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO**

## RESUMO

A cultura do milho devido seu potencial produtivo, composição química e valor nutricional desempenha papel fundamental socioeconômico mundialmente. O uso de diversas alternativas de manejo, tais como híbridos *Bt* e adubação potássica possibilitam aumentos nos incrementos produtivos e na melhor durabilidade nas tecnologias de manejo. Assim, o objetivo deste trabalho é identificar o efeito das doses de potássio sobre a resistência transgênica *Bt*, produtividade e no dano causado na planta e na espiga de híbridos de milho. Os experimentos foram desenvolvidos na Universidade Estadual de Goiás, localizada no município de Ipameri, na safra de verão de 2014/15 e 2015/2016. Foi utilizado o delineamento experimental, no arranjo fatorial (3 x 6), três doses de potássio (0, 45 e 90 kg ha<sup>-1</sup>) e seis híbridos de milho [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) e F. (NS92VTPro)], com três repetições. Contudo, a utilização do aumento de doses de potássio não demonstrou resultados favoráveis no controle da *Spodoptera frugiperda*. Os híbridos 30A77PW e MG652PW destacaram por desenvolver um grau de resistência/tolerância maior ao ataque da praga, evidenciou a importância da piramidação dos genes. O híbrido 20A55Hx desempenhou papel semelhante ao convencional em relação aos danos causados pelas lagartas, principalmente no início do ciclo de desenvolvimento do milho.

**Palavras-chave:** *Zea mays*. L, Híbridos comerciais, eventos transgênicos.

## ABSTRACT

The corn crop, due to its productive potential, chemical composition and nutritional value, plays a fundamental socioeconomic role worldwide. The use of several management alternatives, such as *Bt* hybrids and potassium fertilization, allow for increases in productive increments and better durability in management technologies. Thus, the objective of this work is to identify the effect of potassium doses on *Bt* transgenic resistance, productivity and on the damage caused to the plant and the ear of corn hybrids. The experiments were carried out at the State University of Goiás, located in the municipality of Ipameri, in the 2014/15 and 2015/2016 summer harvests. The experimental design was used in a factorial arrangement (3 x 6), three doses of potassium (0, 45 and 90 kg ha<sup>-1</sup>) and six corn hybrids [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) and F. (NS92VTPro)], with three replications. A factorial arrangement was used, with a randomized block design, with six corn hybrids [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) and F. (NS92VTPro)]. However, the use of increased potassium doses did not show favorable results in the control of *Spodoptera frugiperda*. The hybrids 30A77PW and MG652PW stood out for developing a degree of resistance to pest attack, evidencing the importance of gene pyramiding. The 20A55Hx hybrid played a similar role to the conventional one in relation to the damage caused by the caterpillars, mainly at the beginning of the maize development cycle.

**Key words:** *Zea mays*. L, Commercial hybrids, transgenic events.

## INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma das principais culturas no contexto econômico e social mundialmente (TRINDADE et al., 2017). Segundo a Conab (2021), o Brasil exerce destaque na produção mundial, ficando entre os maiores países em produção do grão, com cerca de 87 milhões de toneladas na safra 2020/21, com produtividade média de 4.367 ka ha<sup>-1</sup>, em cerca de 19,9 mil hectares.

Entretanto, apesar do excelente posicionamento em área colhida da cultura, os níveis de produtividade são baixos e alguns fatores bióticos, tais como, o aumento de pragas, principalmente as lagartas, têm interferido no comportamento dos materiais (TRINDADE et al., 2017). Dessa forma, emprega-se a importância de buscas por inovações para o incremento nos teores produtivos, na diminuição dos custos de produção e na eficiência da tecnologia inserida.

O uso de biotecnologia dos transgênicos é uma das principais alternativas, tais híbridos são capazes de codificarem proteínas com atividade inseticida, sendo a principal alternativa no controle de pragas-alvo e manutenção de inimigos naturais na cultura do milho (XING et al., 2019). As proteínas mais utilizadas atualmente são de origem Cry, que são produzidas geralmente por *Bacillus thuringiensis (Bt)*, é tóxico para lagartas desfolhadores ou brocas do caule (AGUERO-FERREIRA et al., 2021). Contudo, o manejo incorreto tem gerado riscos as tecnologias *Bt's*, devido à seleção de insetos resistentes e consequentemente desenvolvimento de populações resistentes (CHEN et al. 2016).

Diversos estudos demonstram a eficiência dos híbridos transgênicos no controle das principais lagartas e não apresentando interferência na biologia e na capacidade de reprodução do predador *P. nigrispinus* no milho (SANTANA et al., 2017); o uso do milho *Bt* auxiliaram no controle de *S. frugiperda* e *D. saccharalis* e apresentaram um rendimento superior as cultivares comerciais (VERTUAN et al., 2017); entre outros. Adicionalmente, existe a possibilidade de geração de descendentes de insetos sobreviventes no milho, os quais podem proliferar e gerarem populações resistentes, devido aos diferentes mecanismos de defesa, comprometendo a taxa de sobrevivência e o rendimento produtivo (BENARDI et al., 2014). Sendo assim, estratégias conjuntas se torna uma opção na manutenção do equilíbrio nutricional em planta, proporcionando redução nos problemas, tal como adubação potássica.

O potássio é responsável na ativação de mecanismos de defesa aos estresses hídricos (JORDAN-MEILLE et al., 2018) e na resistência contra insetos-praga, devido aumento de

metabolismo secundários e redução dos carboidratos, possibilitando a diminuição a população insetos principalmente da ordem Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera (BALA et al., 2018).

Morais et al. (2021), avaliaram que a utilização de adubação potássica em híbridos de milho apresentou melhor desempenho agrônômico a cultura do milho, além da bactéria inserida proporcionar aumento na absorção de macronutrientes melhorando a nutrição da planta. Os autores relataram que os mecanismos fisiológicos da simbiose da bactéria e da cultivar, proporcionou esses incrementos e gerou uma nova alternativa de manejo, que auxilia na redução de custos e aumento dos rendimentos da cultura. Contudo, notou-se que os nutrientes não influenciam somente o crescimento das espécies vegetais, mas no comportamento, disposição e desempenho de insetos herbívoros. E que a junção de alternativas de manejo pode incrementar o potencial produtivo da cultura e a eficiência da tecnologia.

Entretanto, existem poucos estudos a respeito do papel dos nutrientes e do desempenho das plantas transgênicas com relação à interação entre os eventos e os danos. Portanto, o objetivo deste trabalho é identificar o efeito das doses de potássio sobre a resistência transgênica *Bt*, produtividade e no dano causado na planta e na espiga de híbridos de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

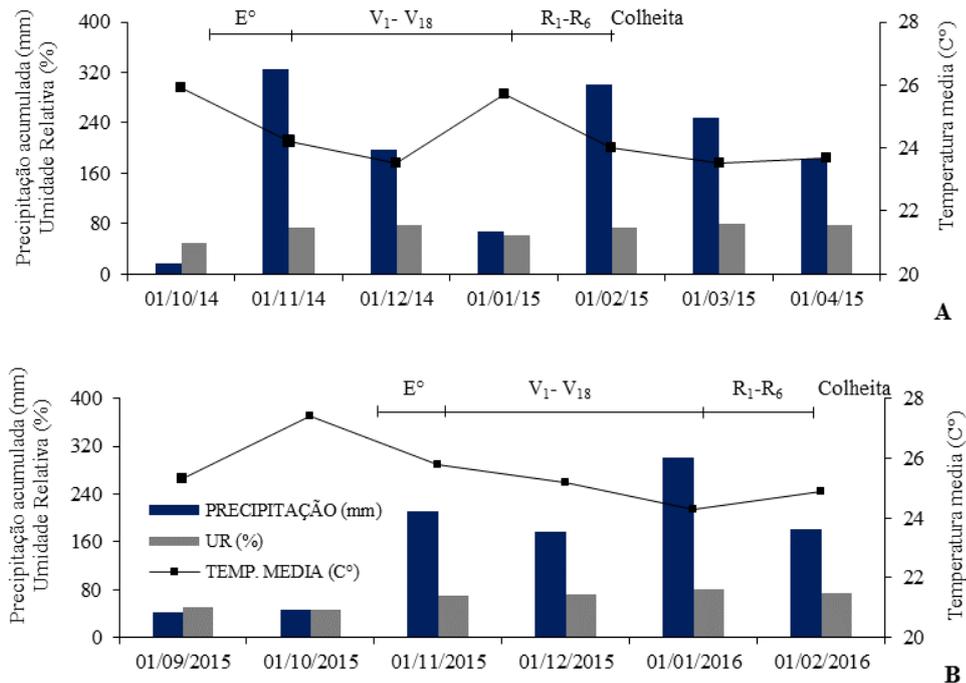
Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual de Goiás, localizada no município de Ipameri, GO (Lat. 170 43' 19" S, Long. 480 09' 35" W, Alt. 773 m), em Latossolo Vermelho distrófico, conforme EMBRAPA (2013), na safra de verão de 2014/15 e 2015/2016 (Figura 1).

O preparo do solo foi realizado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, no arranjo fatorial de 6 x 3 (seis híbridos de milho em três doses de potássio). As parcelas apresentavam uma área útil de 3 m<sup>2</sup>, sendo constituída por duas fileiras, com 3 m de comprimento, espaçadas a 0,5 m.

Os híbridos comerciais de milho utilizados e suas respectivas tecnologias foram o 20A55Hx – “A” (Cry1F), 30A77PW – “B” (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), AG1051 – “C” (convencional – testemunha), MG652PW – “D” (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), NS90VTPro2 – “E” (Cry1A.105/Cry2Ab2/CP4-EPSPS) e NS92VTPro – “F” (Cry1A.105/Cry2Ab2).

A adubação para a cultura do milho foi realizada de acordo com a Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999), com base na análise de solo

(Tabela 1), para uma produtividade esperada de 8 ton ha<sup>-1</sup>. Na adubação de semeadura, apenas as doses de cloreto de potássio (KCl) variaram, sendo zero de potássio (baixa disponibilidade), 45 kg ha<sup>-1</sup> (disponibilidade intermediária) e 90 kg ha<sup>-1</sup> (disponibilidade adequada), mais 120 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 160 kg de ha<sup>-1</sup> de nitrogênio (ureia), sendo 32 kg ha<sup>-1</sup>, no plantio, e 124 kg N ha<sup>-1</sup>, em cobertura, no estágio V<sub>6</sub>, distribuídos de forma manual, ao lado do sulco de semeadura.



**Figura 1.** Precipitação acumulada (■), umidade relativa (■) e temperatura média (—), no município de Ipa meri, GO, durante os meses de cultivo do milho. Fonte: INMET (2019).

**Tabela 1.** Características químicas do solo utilizado no experimento, na camada de 0 a 20 cm, na safra 2014/15, sem aplicação de fertilizantes.

SOLO	pH	M.O.	P <sub>Melich</sub>	H+Al	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	AL	CTC	V%
	CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	cmolc dm <sup>-3</sup>			%			
0 – 20 cm	5,43	22,6	1,25	2,06	0,11	2,03	0,9	0,0	5,2	59,1
20 – 40 cm	4,78	18,6	0,50	2,70	0,9	1,06	0,6	0,3	4,3	36,5

pH – acidez ativa, M.O. – Matéria orgânica, P – Fósforo disponível, H+Al – acidez potencial, k – Potássio disponível, Ca – Cálcio trocável, Mg – Magnésio trocável, AL - alumínio, CTC – Capacidade de troca catiônica efetiva, V% - Saturação por bases.

A semeadura foi realizada em novembro, de forma manual, distribuindo cinco sementes por metro linear, com posterior desbaste, no estágio V<sub>3</sub>, estabelecendo um estande

final de 55.000 plantas por hectare. No estágio V<sub>4</sub> realizou-se o controle das plantas daninhas, com o herbicida a base de benzoilciclohexanodiona, na dose de 240 ml ha<sup>-1</sup>, utilizando um pulverizador costal, aliado a capina manual. O controle de lagartas foi realizado apenas no híbrido convencional, com o inseticida a base de flubendiamida, na dose de 150 ml ha<sup>-1</sup>, no estágio V<sub>5</sub>, após monitoramento e apenas uma vez.

Foram feitas estimativas visuais de cada parcela, com uma escala de notas (Tabela 2), com variação entre 0 e 9, para avaliação de danos da *S. frugiperda* no cartucho e folhas do milho, adaptada por Davis et al., (1992), para as estimativas dos danos em estádios distintos, 30 (DANO30), 70 (DANO70) e 110 (DANO110) dias após a semeadura (DAS). Em cada avaliação foram utilizadas três plantas tomadas ao acaso e atribuída à média à parcela. Aos 70 dias após a semeadura, foram avaliadas as taxas fotossintéticas, utilizando o clorofilômetro modelo CFL 1030, em cinco plantas por parcela, após as medições, transformados em média por parcela, denominados de índice de clorofila foliar (ICF), em unidades SPAD.

**Tabela 2.** Escala de notas de danos causados por *Spodoptera frugiperda* adaptada por Davis et al., (1992).

Nota	Descrição
0	Nenhum dano nas folhas
1	Perfurações diminutas em algumas folhas
2	Pequenas quantidades de perfurações arredondadas em algumas folhas
3	Perfurações arredondadas em várias folhas
4	Perfurações arredondadas e lesões em algumas folhas
5	Lesões em várias folhas
6	Grandes lesões em várias folhas
7	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) em algumas folhas
8	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) em várias folhas
9	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) na maioria das folhas

A colheita foi realizada quando as espigas apresentaram o ponto de maturação fisiológica, com umidade em torno de 30%, os quais foram colhidas todas as espigas das parcelas manualmente. Posteriormente, avaliou-se diâmetro da espiga (DIAME), que foi obtido a partir da média de cinco espigas tomadas ao acaso, sendo atribuída a média à parcela, com o auxílio de um paquímetro graduado, em milímetros; comprimento de espiga (COMPE), com o auxílio de uma régua graduada, mediu-se o comprimento de cinco espigas tomadas ao acaso, sendo a média aritmética atribuída à parcela, em centímetros; porcentagem de espigas

sem danos (PESD), a partir da contagem das espigas sem injúrias causadas por lagartas, com base no número total de espigas da parcela, posteriormente, transformados em porcentagem, sendo calculado a presença ou ausência do dano na espiga.

A produtividade de grãos (PROD) foi obtida a partir da massa de grãos, em kg, resultantes da debulha do total das espigas de cada parcela, sendo os valores obtidos corrigidos para 13% umidade, posteriormente, transformados para  $\text{kg ha}^{-1}$ ; peso de 1000 grãos (P1000), separou-se mil grãos ao acaso de cada parcela, realizou-se a pesagem, posteriormente, transformados para 13% de umidade, em gramas.

Para interpretação dos dados foi feita a análise de variância univariada, verificou-se a significância do teste F e, logo após, a análise multivariada (MANOVA), o qual o conjunto de variáveis foi agrupado de acordo com suas características e em eixos de coordenadas. A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para caracterizar os tratamentos e as relações com os eventos e as doses de potássio. A técnica ACP gerou variáveis latentes ortogonais, com centro na região de maior concentração da variabilidade. Para isso, foi utilizada a matriz de covariância dos dados, da qual foram extraídos os autovalores que originaram os autovetores (componentes principais, PCs), que são combinações lineares das variáveis originais, com o auxílio do programa computacional R (R CORE TEAM, 2009).

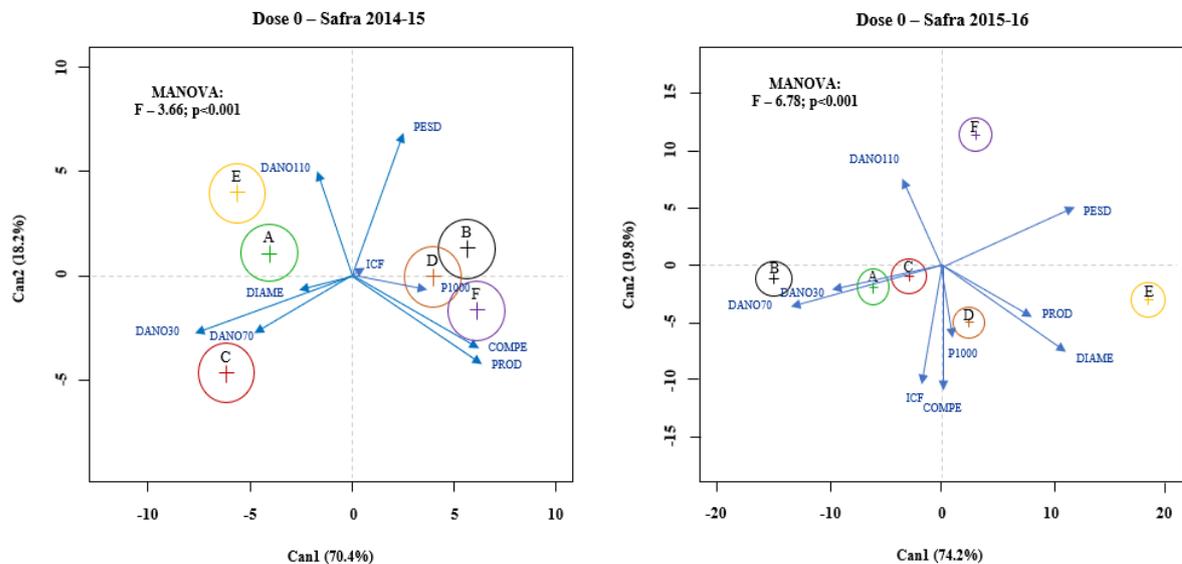
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O objetivo da análise dos componentes principais (ACP) é atingido quando um número relativamente pequeno de componentes extraídos possuem a capacidade de explicar grande parte da variabilidade dos dados originais (RIBAS e VIEIRA, 2011). Adicionalmente, confirmado pela significância da MANOVA e pela variação média explicada por cada componente, em média, 66,4 e 24,1% da variância total, para os componentes principais 1 e 2, respectivamente (Figura 2, 3 e 4).

Nos experimentos, verificou-se que a precipitação, umidade e temperatura na safra 2014/15 apresentaram alta variação, cerca de 921 mm de precipitação, enquanto na safra 2015/16 obtiveram 869 mm de precipitação (Figura 1). Ou seja, em ambas safras a necessidade hídrica da cultura foi suprida, já que o milho apresenta alta demanda por água e se caracteriza pela eficiência do uso, o que produz uma grande quantidade de matéria seca (JUNIOR CAVALCANTE et al., 2018). Entretanto, na safra 2014/15, ocorreu um período de veranico durante o final do ciclo vegetativo e início do reprodutivo. A ausência de água no solo tem como sinal primário o fechamento estomático, além de várias enzimas inerentes ao crescimento que ficaram inativadas e, dessa forma, acarretaram na diminuição da área foliar,

que pode ter reduzido a área fotossintética e a taxa de transpiração (SOUZA et al., 2013), como consequência, um menor rendimento.

Em relação a temperatura e a umidade relativa apresentou dados elevados (Figura 1), o que se torna propício a maiores danos, e consequentemente, o aparecimento de doenças, tais como *Cercospora zea-maydis*, causando perda de até 80% na produtividade (BRITO et al., 2011). Assim, a pressão de pragas acerca-se de grandes índices nestas condições climáticas, principalmente da *Spodoptera frugiperda* (TRINDADE et al., 2017), caracterizada na safra de 2015/16 (Figura 2).



**Figura 2.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, sem aplicação de potássio ( $0 \text{ kg ha}^{-1}$  de KCl), em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 – danos aos 30 dias; DANO70 – danos aos 70 dias; DANO110 – danos aos 110 dias após semeadura; ICF – índice de clorofila foliar; COMP – comprimento da espiga; DIAME – diâmetro da espiga; P1000 – peso de mil grãos; PESD – porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C – convencional), MG652PW (D), NS90VTPro2 (E) e NS92VTPro (F).

O comprimento de um vetor demonstra o grau de influência sobre os híbridos avaliados e a relação entre as variáveis, quanto maior for o comprimento de um vetor, mais influente este será para a análise e para a variação presente no híbrido. Na análise de componentes principais, o híbrido AG1051(C) destacou-se por atribuir maiores danos aos 30 e 70 DAS, o que influenciou diretamente no diâmetro. Adicionalmente, os híbridos 20A55Hx (A) e NS90VTPro2 (E) demonstraram maiores índices de danos aos 110 DAS (Figura 2). Estes resultados demonstram que a utilização de cultivares convencionais, se caracterizaram por apresentar maiores danos aos ataques de pragas, principalmente da *S. frugiperda*, evidenciou que as tecnologias de melhoramento se empenham para garantir materiais

geneticamente superiores disponíveis no mercado (SOUZA et al., 2017). Na safra 2015/16, ocorreu a inclusão dos híbridos 20A55Hx (A) e do 30A77PW (B), com alteração de importância entre os danos aos 30 e 70 DAS (Figura 2).

Resultados são distintos com de Souza et al., (2017) ao analisarem o desempenho de híbridos de milhos convencionais e transgênicos (*Bt*), não encontraram interação significativa entre as cultivares para nenhuma das variáveis avaliadas, além de, independente da biotecnologia e híbrido constatou-se que as participações percentuais de colmo e folhas nas plantas de milho reduziram diariamente na ordem de 0,387% e 0,447%, porém ambos apresentaram características morfológicas ideais para incrementos produtivos. Os autores relatam que as frações nas plantas pode ser um dos quesitos por resultados semelhantes, em que, a biotecnologia deve aprimorar a seleção de genes específicos (SOUZA et al., 2017).

Os resultados evidenciaram que o híbrido 20A55Hx (A) possui resultado similar a um híbrido convencional, com apenas uma aplicação, durante a safra 2014/15 e 2015/16, caracterizado pela perda da eficiência da transgenia Cry1F, ocasionou maiores danos a planta, em vez, de algum estresse nutricional (Figura 2 e 3). Isso salienta um caso comum nas lavouras produtivas atualmente, grandes tecnologias vêm perdendo força devido a resistência das pragas ao gene inserido, a má condução de manejo e a falta de rotação entre as cultivares no decorrer dos anos. Resultados similares foram descritos Paiva et al. (2016), ao analisarem os benefícios de diferentes híbridos *Bt* (P4285Hx) sob a desfolha causada por *S. frugiperda* na cultura do milho, os genótipos eram moderadamente resistentes ao inseto, quando se alimentaram de plantas convencionais apresentaram maior viabilidade, com índices de 85 e 90%, enquanto aos híbridos contendo *Bt* não alcançaram o próximo estágio. Este impacto resulta-se da antibiose e das proteínas tóxicas Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry1F, Cry1Ab e VIP3Aa20 inseridas nas cultivas, que tem efeitos deletérios na praga (PAIVA et al., 2016).

As proteínas *Bt* expressas pelos eventos Cry1A.105 e Cry2Ab2, presente no híbrido NS90VTPro2 (E), durante a safra 2014/15 apresentaram perda de desempenho no controle da lagarta do cartucho aos 110 DAS, o que evidencia a seleção de resistência em população de *S. frugiperda*. Enquanto na safra 2015/16 o híbrido proporcionou menores danos, devido a incidência de chuvas intensas no período reprodutivo (Figura 2). Entretanto, os resultados podem estar associados a conduta inadequada da tecnologia no decorrer dos anos, como não observar as regras de refúgio e a ausência de monitoramento das pragas, o que ocasiona certos riscos produtivos (PAIVA et al., 2016).

Resultados análogos foram avaliados por Bernardi et al. (2016), ao analisarem a eficácia dos eventos transgênicos Cry1A.105/Cry2Ab2 e Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F sobre *S. frugiperda*, demonstrou que as proteínas *Bt* expressas no milho intensificam a atividade

biológica em folhas e não são tão significativas em estilos-estigmas e grãos. No entanto, a atividade das proteínas nos grãos e estilos-estigmas afetam negativamente os parâmetros de crescimento populacional da lagarta. Os autores relataram que a baixa significância nos estilos-estigmas e grãos podem estar relacionadas ao recém-nascidos de *S. frugiperda* apresentarem alta sobrevivência, e as proteínas possuem menor expressão nos estádios reprodutivos da planta, enquanto, os resultados favoráveis são parcialmente dependentes da proteína Cry2Ab2, que não possui resistência cruzada como as demais tecnologias, inibindo detritos de resistência (BERNADI et al., 2016).

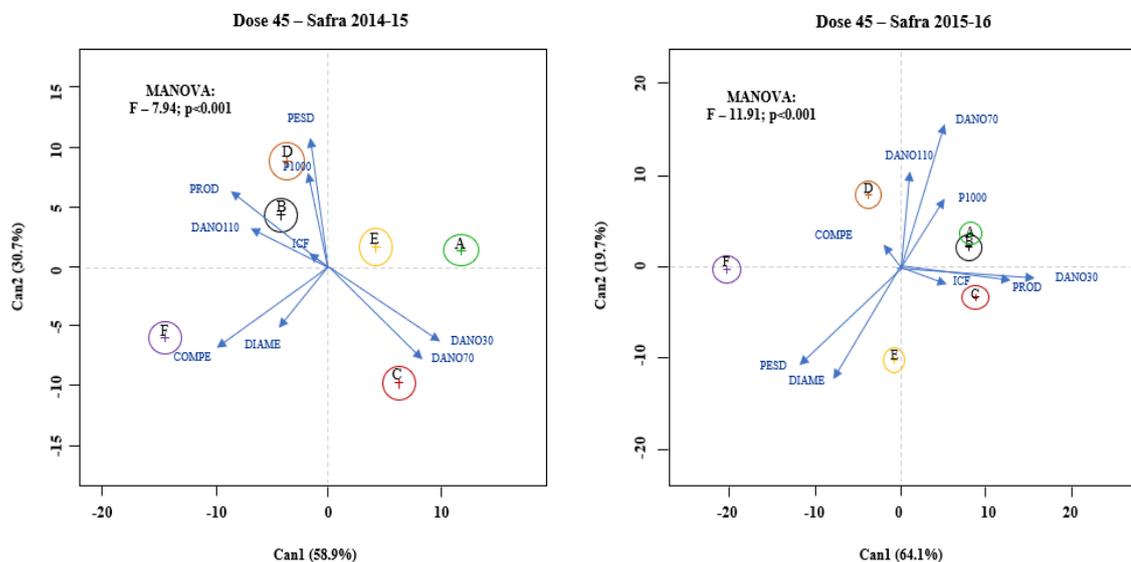
Na safra 2014/15 e 2015/16, verificou-se que híbridos NS92Pro (F) e MG652PW (D) foram efetivos contra a herbívoros de *S. frugiperda* (Figura 2). Estes resultados podem estar associados a tecnologia inseridas nas cultivares, por serem parcialmente dependentes da proteína Cry2Ab2 não possui resistência cruzada com as outras proteínas, diminuindo a resistência das pragas a tecnologia, apesar da baixa toxicidade em relação a praga (BERNADI et al., 2016). Adicionalmente, Barcelos et al. (2018), estudaram o comportamento de diferentes híbridos com tecnologia *Bt* provenientes ao ataque da lagarta do cartucho, concluíram que as tecnologias Powercore, Viptera3 e VT (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F) proporcionaram melhores desempenho no controle da praga nos parâmetros avaliados. Segundo os autores, estes resultados estão interligados a densidade populacional de *S. frugiperda* ser menor no estágio vegetativo do milho, intensificando a efetividade da expressão da toxina no crescimento primordial da cultura (BARCELOS et al., 2018).

O híbrido NS90Pro (F), na safra 2015/16, não foi influenciado, mantendo-se distante de todos os vetores e sem incidência de danos (Figura 2). Devido o milho necessitar de uma alta demanda de água, principalmente no estágio vegetativo, a alta demanda de precipitações no decorrer da safra contribuiu significativamente aos incrementos vegetativos e reprodutivos da cultura (PIAS et al., 2018). Contudo, os híbridos que se destacaram na safra 2015/16, sem aplicação do cloreto de potássio, apresentaram-se eficazes no uso de água e nutrientes disponíveis, além disso, maior eficiência específica no uso do potássio por ser o elemento deficitário.

O potássio (K) é o segundo nutriente mais requerido pelo milho, sendo essencial em diversos complexos enzimáticos, atua na fosforilação oxidativa, translocação de carboidratos, e sua ausência acarreta a redução da fotossíntese, aumento da respiração e dos compostos nitrogenados solúveis em detrimento das proteínas, afetando diretamente os teores produtivos (KERBAUY et al., 2006). Além disso, o K influencia diretamente no comportamento do fósforo, no acúmulo de água nas folhas, no desenvolvimento da parede celular e na tolerância de algumas pragas e doenças, devido ao cofator enzimático em reações de síntese de

compostos fenólicos, que afetam negativamente eventos biológicos em insetos fitófagos (ALCANTRA et al., 2019).

A disponibilização de doses intermediárias de potássio proporcionou o híbrido AG1051 (C) em ambas as safras apresentaram extrema ligação aos danos causados por *S. frugiperda*, semelhante ao que ocorreu quando não houve aplicação de potássio (0 kg ha<sup>-1</sup>). Entretanto, as cultivares tiveram desempenho semelhantes e não apresentaram resultados negativos aos danos das pragas. (Figura 3). Estes resultados podem estar associados, devido a cultivar ser convencional, ou seja, não tem inserção da expressão do gene de proteína que causa a morte da lagarta do cartucho, além disso, apesar do potássio desempenhar um papel de defesa na planta, não é a principal função estabelecida pelo nutriente o que pode ter causado tais resultados. Roel et al. (2017), obtiveram resultados distintos, em que, ao avaliarem a ocorrência de *S. frugiperda* na cultura do milho convencional, a utilização de adubação química (potássica e nitrogenada) proporcionou melhor desenvolvimento vegetal e maior mortalidade da praga. Dessa forma, os autores relatam que os tipos de fertilizantes podem alterar a resposta da planta para sua defesa, adubações potássicas podem oferecer melhor desenvolvimento e aumentar a viabilidade das fases de crescimento (ROEL et al., 2017).



**Figura 3.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, com aplicação de potássio na dose de 45 kg ha<sup>-1</sup> de KCl, em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 - danos aos 30 dias; DANO70 - danos aos 70 dias; DANO110 - danos aos 110 dias após semeadura; ICF - índice de clorofila foliar; COMP - comprimento da espiga; DIAME - diâmetro da espiga; P1000 - peso de mil grãos; PESD - porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C - convencional), MG652PW (D), NS90VTPPro2 (E) e NS92VTPPro (F).

Adicionalmente, se a *S. frugiperda* quebrar a resistência a proteína Cry1F, o híbrido NS92VTPro (F) seria um híbrido menos vulnerável, devido à combinação de duas proteínas *Bt* com modos de ação diferentes, proporciona estabilidade e permanência no mercado e um menor risco (Figura 3A e 3B). Entretanto, o híbrido 30A77PW (B) apresenta maior tolerância devido ao alto incremento produtivo, mesmo com a ocorrência de danos. Segundo Storer et al. (2012), para uma população quebrar a resistência a genótipos que possuem mais de uma tecnologia, os indivíduos precisam superar as resistências das proteínas simultaneamente e, conseqüentemente, reproduzirem e aumentar a população para estes alelos, o que dificulta o seu desenvolvimento.

Os híbridos 30A77PW (B) e MG652PW (D) demonstraram melhor potencial produtivo na primeira safra (2014/15), associado ao menor dano nas folhas até o florescimento (DANO30 e DANO70), porém maior dano ao final do ciclo (DANO110). Na segunda safra (2015/16), o híbrido 30A77PW (B) se manteve entre os mais produtivos, no entanto o híbrido MG652PW (D) demonstrou maior susceptibilidade a lagarta, não apresentando estabilidade, possivelmente devido a fatores climáticos. Segundo Olatinwo e Hoogenboom (2014), condições climáticas como temperatura, umidade do ar e pluviosidade podem causar efeitos diretos ou indiretos na infestação de insetos-praga, além de tornar as culturas mais vulneráveis ao dano, principalmente nos estádios iniciais.

Os híbridos NS92VTPro (F) e NS90VTPro2 (E) nas ambas as safras apresentaram maiores índices no comprimento e diâmetro de espiga, porém não obtiveram respostas positivas na produtividade, apesar de não apresentarem danos foliares significativos (Figura 3). Waquil et al. (2013) verificaram a maior eficiência de híbrido *Bt* no controle de *S. frugiperda* na presença de mais proteínas, efeito da piramidação, no qual a combinação Cry1A.105 e Cry2Ab2 (presentes nos híbridos NS92VTPro e NS90VTPro2) são mais efetivos do que uma proteína por si. Segundo os autores, os híbridos contendo apenas a proteína Cry1A promove somente a supressão de *S. frugiperda*, dependendo das condições ambientais favoráveis e o monitoramento (WAQUIL et al., 2013).

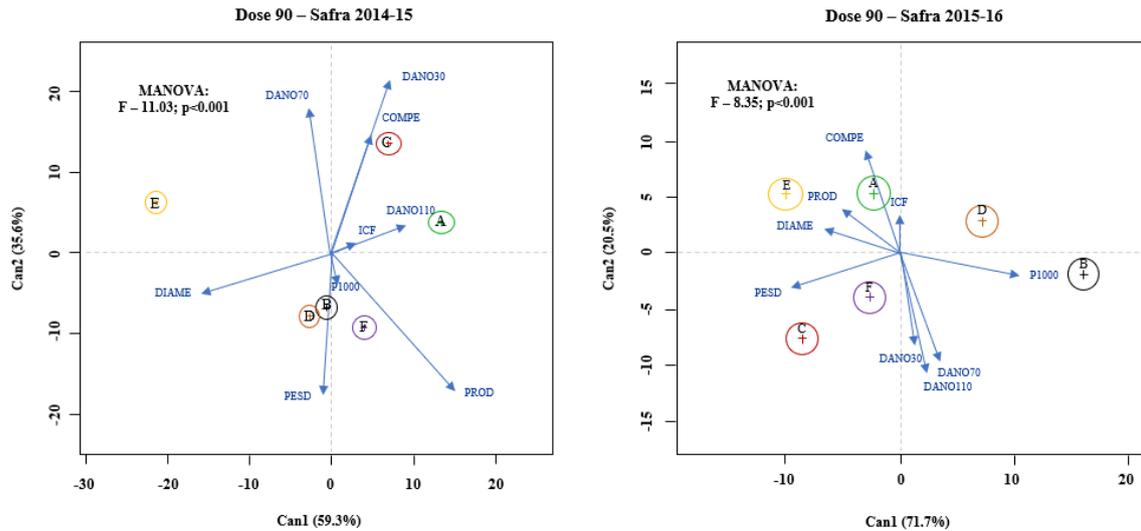
O ICF na dosagem intermediária apresentou correlação com a produtividade dos híbridos de milho nas duas safras, com maior influência na segunda safra (Figuras 3). De acordo com Zhao et al. (2016), o potássio desempenha um papel importante na função dos estômatos e na cadeia transportadora de elétron, os quais sob déficit hídrico, a taxa fotossintética é reduzida. Concomitantemente, desempenha importante função na fotossíntese, principalmente na atividade da rubisco, assimilação e translocação de nutrientes, relacionados a atividade enzimática (AMTMANN, et al, 2008).

Os vetores dos danos 30, 70, 110 DAS estão em direções distintas na safra de 2014/15 e são responsáveis pela discriminação do híbrido AG1051 (C) e 20A55Hx (A), enquanto na safra 2015/16 estão associadas à mesma direção (Figura 4) Devido ao ataque de *S. frugiperda*, os híbridos sofrem consequências fisiológicas ao estresse provocado pelas injúrias, que podem ser identificadas através da redução em eficiência do aparato fotossintético (YUSUF et al. 2010). Esses fatores são considerados pela avaliação do índice relativo de clorofila (IRC), carecido ao dano surgir no consumo contínuo de folhas, que muitas vezes causam extensa desfolhação e a destruição completa da planta, afetando dessa forma o aparelho fotossintético responsável pela geração de energia à planta e converter em assimilados, relacionados aos incrementos na produtividade (PAIVA et al., 2016).

Os híbridos 30A77PW (B), MG652PW (D) e NS92VTPro (F) proporcionaram resultados favoráveis em relação à resistência ao ataque de *S. frugiperda*, na safra 2014/15, e em relação as variáveis de produtividade, peso de grãos e baixa porcentagem de espiga danificadas (Figura 4A). A técnica de “gene stacking” caracterizada pela combinação e criação de um ou mais genes de resistência a doenças de plantas, produtividade da cultura, entre outras variáveis (KUDO et al., 2018), presente nos híbridos, proporcionou resultados favoráveis no controle de pragas, por agregar duas ou mais proteínas no mesmo híbrido. Esses resultados são semelhantes aos descritos por Lourenço et al., (2017) ao avaliarem o híbrido transgênico (Morgan 30A91 Pro) com três proteínas aprimorou a proteção contra-ataques de *S. frugiperda*. A interação entre a fertilização com silicato e os transgênicos produziram um efeito sinérgico, sugerindo uma alternativa viável para o controle da praga (LOURENÇO et al., 2017).

Na safra 2015/16 os híbridos comportaram-se distintos a safra anterior, em que, os híbridos se correlacionaram as variáveis de produtividade e não se associaram aos danos (Figura 4). O aumento da produtividade pode estar associado a disponibilidade hídrica e nutricional. Cavalli e Lange (2018), afirma que o milho sob estresse hídrico, tem dificuldade de absorver nutrientes, principalmente potássio, devido ao fluxo de massa solo-planta consequentemente da baixa taxa de transpiração, assim diminui a absorção. Já em condições de precipitação adequada, a umidade do solo apresenta efeito sinérgico na absorção e uso do K. na solução do solo, pelas plantas (SERAFIM et al., 2012).

Portanto, é provável que as duas condições de pluviometria uma desuniforme, outra regular, durante a fenologia da cultura tenha contribuído para que os híbridos tivessem restrição a absorção ou disponibilidade de K, respectivamente. Foi possível então diferir sua eficiência quanto ao estresse nutricional, por terem água como o fator limitante, inviabilizando o uso de outros elementos inorgânicos, por comprometer a absorção radicular.



**Figura 4.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, com aplicação de potássio na dose de  $90 \text{ kg ha}^{-1}$  de KCl, em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 - danos aos 30 dias; DANO70 - danos aos 70 dias; DANO110 - danos aos 110 dias após semeadura; ICF - índice de clorofila foliar; COMPE - comprimento da espiga; DIAME - diâmetro da espiga; P1000 - peso de mil grãos; PESD - porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C - convencional), MG652PW (D), NS90VTPro2 (E) e NS92VTPro (F)

Na safra 2015/16 os híbridos tiveram durante o ciclo índices pluviométricos estáveis, principalmente em épocas importantes na cultura, tais como, o desenvolvimento inicial, floração e enchimento das espigas, condições favoráveis e manejo correto de adubação demonstram que um ambiente favorável proporciona um bom desempenho agrônômico e aumento da produtividade na safra. Corroborando com os resultados, Petter et al. (2016), ao avaliarem diferentes doses e épocas de aplicação de potássio no desempenho agrônômico do milho, concluíram que as condições favoráveis e adubação adequada favorecerem incrementos nos teores produtivos. Os autores justificam os resultados através do aspecto ambiental favorável viabilizando a função do nutriente (PETTER et al., 2016).

O fornecimento das doses adequadas de potássio nos híbridos distingue o comportamento de cada material, sendo possível identificar o potencial responsivo de cada híbrido a dose aplicada e suas tecnologias de resistência, correlacionando-se com as safras. Além disso, a comparação entre híbridos, sejam convencionais ou transgênicos, são excepcionais para o posicionamento dos materiais por parte dos produtores e no avanço dos programas de melhoramento genético, assim evitando resistências dos insetos alvos.

## CONCLUSÃO

A progressão de dosagem de potássio não demonstrou resultados efetivos no controle de *Spodoptera frugiperda*.

Os híbridos 30A77PW e MG652PW proporcionaram resultados significativos no grau de resistência ao ataque da *Spodoptera frugiperda*.

O híbrido 20A55Hx desempenhou papel semelhante ao convencional em relação aos danos causados pelas lagartas, principalmente no início do ciclo de desenvolvimento do milho.

## REFERÊNCIAS

AGUERO-FERREIRA, M. A.; SANCHEZ-BENITEZ, A.; VELÁSQUEZ, J. A.; BRITÉZ-VEGA, G. D.; LESMO-DUARTE, N. D.; ACOSTA-RESQUÍM, M. F. Damage caused by green belly bug *Dichelops melacanthus* to transgenic corn *Bacillus thuringiensis* (*Bt. Intropica*, v. 16, n.1, p. 66-71, 2021.

ALCANTRA, E.; MORAES, J. C.; AUAD, A. M.; ALVARENGA, R. Resistência induzida ao pulgão-do-algodoeiro em cultivares de algodão colorido. **Revista de Ciências Agrárias**, n.1, p 483 – 491, 2019.

AMTMANN, A.; TROUFFLARD, S.; ARMENGAUD, P. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. **Physiologia Plantaru**, v.133, p.682-691, 2008.

ASSMANN, E.J.; BEDIN, F.A.; POLO, L.R.T.; SCHUSTER, I. Eficiência de eventos transgênicos de resistência a insetos em soja e milho. **Revista cultivando o saber**, v.8, n.2, p. 201-204, 2015.

ASSMANN, E.J.; LIMA, L.G. Desfolha causada pela *Spodoptera frugiperda*, em milho com diferentes biotecnologias. **Revista cultivando o saber**, n.1, p. 56-66, 2015.

BALA, K.; SOOD, A.; PATHANIA, V.S.; THAKUR, S. Effect of plant nutrition in insect pest management: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.7, n.4, p.2737-2742, 2018.

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

BENARDI, O.; SORGATTO, R.J.; BARBOSA, A.D.; DOMINGUES, F.A.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**. v. 58, p. 33–40, 2014.

BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R. J.; SALMERON, E.; OKUMA, D. M. Biological activity of *Bt* proteins expressed in different structures of transgenic corn against *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 6, p.1019-1024, 2016.

BRITO, A.H.; VON PINHO, R.G.; SANTOS, A.O.; SANTOS, S. Reação de híbridos de milho e comparação de métodos para avaliação da Cercosporiose e Mancha branca. **Tropical Plant Pathology**, v.36, n.1, p.35-41, 2011.

CAVALLI, E; LANGE, A. Efeito residual do potássio no sistema de cultivo soja-milho safrinha no cerrado mato-grossense. **Cultura Agronômica**, v.27, n.2, p.310-326, 2018.

CFSEMG - COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. Mamona. In: RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G. & ALVAREZ V., V.H., eds. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais, 5ª Aproximação**. Viçosa, MG, 1999. 314 p.

CHARBOUSSOU, F.; Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos: a teoria da trofobiose. **L & PM**, n.1, p. 272,1999.

CHEN, H-X.; YANG, R.; YANG, W.; ZHANG, L.; CAMARA, I.; DONG, X-H.; LIU, Y-Q.; SHI, W-P. Efficacy of *Bt* maize producing the Cry1Ac protein against two important pests of corn in China. **Environmental Science and Pollution Research**. v.23, p. 21511–21516, 2016.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Centro Nacional de Pesquisa de Solos: Rio de Janeiro. 3ª ed.; 353p, 2013.

INMET – BDMEP – **Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. 2019. Cotação diária**. Instituto Nacional de Meteorologia, 2019.

JORDAN-MEILLE, L.; MARTINEAU, E.; BORNOT, Y.; LAVRES, J.; ABREU-JUNIOR, C.H.; DOMEQ, J-C. How Does Water-Stressed Corn Respond to Potassium Nutrition? A Shoot-Root Scale Approach Study under Controlled Conditions. **Agriculture**, v.8, n.11, p. 180, 2018.

JUNIOR CALVACANTE, E. G.; MEDEIROS, J. F.; FREITAS, I. A. S.; OLIVEIRA, A. K. S.; SOBRINHO, J. E.; SILVA, J. P. N.; SILVA, T. G. F. Development and water requirement of maize crop affected by climate changes in the semiarid region of the Brazilian northeast. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.17, n.2, p. 251-262, 2018.

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 SV. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Nat Biotechnol.** v.11, p. 194–200, 1993.

KUDO, M.; KIDOKORO, S.; YOSHIDA, T.; MIZOI, J.; KOJIMA, M.; TAKEBAYASHI, Y.; SAKAKIBARA, H.; FERNIE, A. R.; SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. A gene-stacking approach to overcome the trade-off between drought stress tolerance and growth in Arabidopsis. **The plant journal**, v.97, n.2, p. 240-256, 2018.

LOURENÇO, M.F.C.; ROSA, A.J.; SIQUEIRA, A.P.S; ARAUJO, L.S.; ALMEIDA, A.C.S.; JESUS, F.G.; CUNHA, P.C.R. Induction of resistance to fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic and conventional corn plants. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, n.09, p.1176-1180, 2017.

MORAIS, M.; AMARAL, H. F.; NUNES, M. P. Development and assimilation of maize culture inoculated with *Azospirillum brasilense* and different doses of nitrogen and potassium. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v.34, n.1, p. 160-176, 2021.

OLATINWO, R.; HOOGENBOOM, G. Weather-based Pest Forecasting for Efficient Crop Protection. **Integrated Pest Management**, p.59-78, 2014. Doi: 10.1016/b978-0-12-398529-3.00005-1

PAIVA, L.A. CORRÊA, F. SILVA, C.L.T.; MOURA, T.L.; SILVA, F.C.S.; ARAÚJO, M.S.; JESUS, F.G. Resistance of corn genotypes to fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n.35, p. 1877-1882, 2016.

PETTER, F. A.; ANDRADE, F. R.; ZUFFA, A. M.; MONTEIRO, M. M. S.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A. Dose e época de aplicação de potássio no desempenho agrônômico do milho no cerrado piauiense. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n.3, p. 372-382, 2016.

PIAS, O. H. C.; LOWE, M. A.; DAMIAN, J. M.; SANTI, A. L.; TREVISAN, R. Componentes de rendimento e produtividade de híbridos de milho em função de doses de NPK e de déficit hídrico em estádios fenológicos críticos. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 4, p.422-432, 2018.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Austria, 2009.

RIBAS, J. R.; VIEIRA, P. R. da C. **Análise Multivariada com o uso do SPSS**. Rio de Janeiro: Editora Ciência Moderna. p. 272, 2011.

ROEL, A. R.; SOARES, J. A. L.; PERUCA, R. D.; PEREIRA, L. C.; JADOSKI, C. J. Occurrence in field and development lab *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Noctuidae) in corn with organic fertilizer and Chemical. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.10, n.1, p.67-73, 2017.

SANTANA, A. G.; ÁVILA, C. J.; OLIVEIRA, H. N.; SCHLICK-SOUZA, E. C. Efeito direto e indireto do milho bt sobre o predador *Podisus nigrispinus*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.16, n.2, p. 319-327, 2017.

SERAFIM, M. E.; ONO, F. B.; ZEVIANI, W. M.; NOVELINO, J. O.; SILVA, J. V. Umidade do solo e doses de potássio na cultura da soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 2, p.222-227, 2012.

SOUZA, M. P.; NEUMANN, M.; HORST, E. H.; LEÃO, G. F. M.; SLOMPO, D.; DOCHWAT, A.; ALMEIDA, E. R. Morphological composition of the conventional and transgenic corn hybrid plant (*Bt*). **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.13, n.1, p.53-58, 2017.

STORER, N. P.; KUBISZAK, M. E.; ED KING, J.; THOMPSON, G. D.; SANTOS, A. C. Status of resistance to *Bt* maize in *Spodoptera frugiperda*: Lessons from Puerto Rico. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.110, p.294-300, 2012.

TRINDADE, R.B.R.; FERNANDES, M.G.; OLIVEIRA, A.C.; MARTINS, P.H.A. Distribuição espacial de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) em milho convencional e Bt. **Entomo Brasilis**, v. 10, n. 2, p. 89-93, 2017.

USDA. **World Agricultural Production** – Safra 2019. Circular Series, The United States, p 1-17, May. 2019.

VERTUAN, H. V.; SALVADOR, J. R.; OLIVEIRA, W. S. O.; BERGER, G. U. Efficacy of bt maize technologies in lepidopteran pests management. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.16, n.1, p. 22-29, 2017.

WANG, F.; PENG, S.; CUI, K.; NIE, L; HUANG, J. Field performance of *Bt* transgenic crops: A review. **Australian Journal of Crop Science**, v.8, n.1, p.18-26, 2014.

WAQUIL, J. M.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, W. S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; MARTINELLI, S. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com evento *Bt* piramidado Cry1A.105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v.48, n.12, p.1529-1537, 2013.

XING, Y.; QIN, Z.; FENG, M.; LI, A.; ZHANG, L.; WANG, Y.; DONG, X.; ZHANG, Y.; TAN, S.; SHI, W. THE IMPACT OF BT MAIZE EXPRESSING THE CRY1AC PROTEIN ON NON-TARGET ARTHROPODS. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 26, n. 6, p. 5814–5819, 2019.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLIMICHAEL, M.; GOVINDJE E.; SARIN, N. B. Overexpression of  $\gamma$ -totoopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, p. 1428- 1438, 2010.

ZHAO, X.; DU, Q.; ZHAO, Y.; WANG, H.; LI, Y.; WANG, X.; YU, H. Effects of Different Potassium Stress on Leaf Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence in Maize (*Zea Mays* L.) at Seedling Stage. **Agricultural Sciences**, v.7, p.44-53, 2016.

## **CAPÍTULO 2**

### **INTER-RELAÇÃO ENTRE NITROGÊNIO E GENES *Bt* SOB A PRODUTIVIDADE DE MILHO E ATAQUE DE LAGARTAS**

## RESUMO

O milho é uma das principais culturas cultivadas devido a sua importância socioeconômica mundialmente. A utilização de adubação nitrogenada é essencial no desenvolvimento e produtividade da cultura, além de utilização de cultivares geneticamente modificadas auxiliam no controle de pragas, principalmente da *S. frugiperda*, devido a composição de genes proteicos com ação inseticida. Dessa forma, é necessário estudos que visem alcançar os teores produtivos, associar tecnologias ao manejo integrado e diminuir os custos de produção. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar o efeito das doses de nitrogênio sobre a resistência de diferentes eventos *Bt*, em transgênicos de milho. Os experimentos foram desenvolvidos na Universidade Estadual de Goiás, localizada no município de Ipameri, na safra de verão de 2014/15 e 2015/2016. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, no arranjo fatorial (3 x 6), três doses de nitrogênio (0, 80 e 160 kg ha<sup>-1</sup>) e seis híbridos de milho [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) e F. (NS92VTPro)], com três repetições. As doses de nitrogênio não influenciaram de forma marcante sobre o controle, mas alteram os danos e período de danos sofridos. Contudo, o híbrido NS90VTPro2 destacou-se para as divergentes condições climáticas e variáveis.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, transgênico, *S. frugiperda*.

## ABSTRACT

Corn is one of the main crops grown due to its socioeconomic importance worldwide. The use of nitrogen fertilization is essential in the development and productivity of the crop, in addition to the use of genetically modified cultivars helping to control pests, especially *S. frugiperda*, due to the composition of protein genes with insecticidal action. In this way, studies are needed that aim to reach production levels, associate technologies with integrated management and reduce production costs. Thus, the objective of this work was to identify the effect of nitrogen doses on the resistance of different *Bt* events in maize transgenics. The experiments were carried out at the State University of Goiás, located in the municipality of Ipameri, in the 2014/15 and 2015/2016 summer harvests. The experimental design was randomized blocks, in a factorial arrangement (3 x 6), three nitrogen rates (0, 80 and 1600 kg ha<sup>-1</sup>) and six corn hybrids [A. (20A55Hx); B. (30A77PW); C. (AG1051); D. (MG652PW); E. (NS90VTPro2) and F. (NS92VTPro)], with three replicates. Nitrogen doses did not significantly influence the control but did change the damage and period of damage suffered. However, the NS90VTPro2 hybrid stood out for the different climatic and variable conditions.

**Keywords:** *Zea mays*, transgenic, *S. frugiperda*.

## INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) exibe grande importância no cenário agrícola mundial, o qual o Brasil é um dos maiores produtores deste cereal e junto com os Estados Unidos e China, são responsáveis por 63% da produção mundial (FIESP, 2021). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021), o país produziu 87 milhões de toneladas na safra 2020/21, os quais a região Centro-Oeste foi responsável por 55,7% da produção nacional. O estado de Goiás se destaca com produção elevada e representa 18% da produção regional, com uma produtividade 5%, acima da média nacional, o que denota a importância da cultura para região. Adicionalmente, esse potencial genético somente é explorado devido ao controle efetivo de pragas e doenças presentes na cultura.

Entre as principais pragas do milho, as que causam maiores danos diretos e indiretos são as lagartas, pois estas podem limitar o rendimento e a lucratividade da lavoura (MOORE E TRACY, 2021). Insetos da ordem Lepidoptera são responsáveis pelos principais danos a cultura, principalmente, a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), considerada a principal praga do milho, responsável por prejuízos significativos durante todo os estádios de desenvolvimento da planta, em detrimento do corte de plantas jovens e pela alimentação das folhas, cartucho e espiga (FATORETTO et al, 2017).

Devido a importância da cultura mundialmente e a queda dos potenciais produtivos principalmente interligados a ataques de pragas, estudos vêm sendo efetuados na busca de melhorar as características do desempenho agrônômico da cultura, visando maximizar a tolerância e produtividade e minimizando os danos a cultura, ao meio ambiente e os custos produtivos. Sendo assim, a inserção de eventos transgênicos é uma das alternativas biotecnológicas mais importantes atualmente. A primeira proteína Cry1Ab foi descrita por Koziel et al. (1993), proveniente da bactéria do solo *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), utilizada no controle eficiente de diversas lagartas. Desde então, a utilização de genes *Bt* mostrou-se como alternativa viável e eficiente no controle de insetos alvo, sem prejudicar inclusive na população de insetos importantes, como predadores (XING et al., 2019).

Algumas das proteínas utilizadas para o controle de insetos lepidópteros são Cry1Ab, Vip3Aa (NIU et al., 2021), Cry1F (SOUZA et al., 2018), Cry1A.105 e Cry2ab2 (PRISCHL et al., 2012). Devido à alta adaptabilidade dos insetos alvo, o manejo incorreto desses cultivares tem gerado riscos a essas tecnologias, podendo diminuir de forma significativa a capacidade de controle das mesmas e inclusive causar a quebra da resistência (OMOTO E BERNARDI, 2015).

Outro fator de extrema importância para a cultura do milho é a nutrição mineral, sendo que os fertilizantes nitrogenados possuem grande importância para atingir altas produtividades (GALINDO et al., 2016), além de aumentar a capacidade da planta em tolerar os diferentes estresses abióticos e bióticos. O nitrogênio (N) é o nutriente absorvido em maior quantidade dentre os macronutrientes, e sua deficiência, é considerada um dos principais fatores limitantes a produtividade dos grãos do milho, pois sua disponibilidade afeta diretamente as taxas de iniciação e expansão foliar, o tamanho final e a intensidade de senescência das folhas (RODRIGUES et al., 2018).

Contudo, percebe-se que os nutrientes são importantes no crescimento e desenvolvimento dos vegetais (RAY et al., 2019), como também, podem influenciar no desempenho das plantas e dos insetos-praga e, podendo assim, afetar na resistência conferida pelo alelo. Sendo assim, alguns estudos demonstram que o aumento dos níveis de adubação aumentou os níveis de ácidos graxos saturados e diminuiu os teores de ácidos graxos insaturados, potencializando o óleo do milho (RAY et al., 2019); aumentos nos teores produtivos e na produtividade do milho (ROLIM et al., 2018), entre outros.

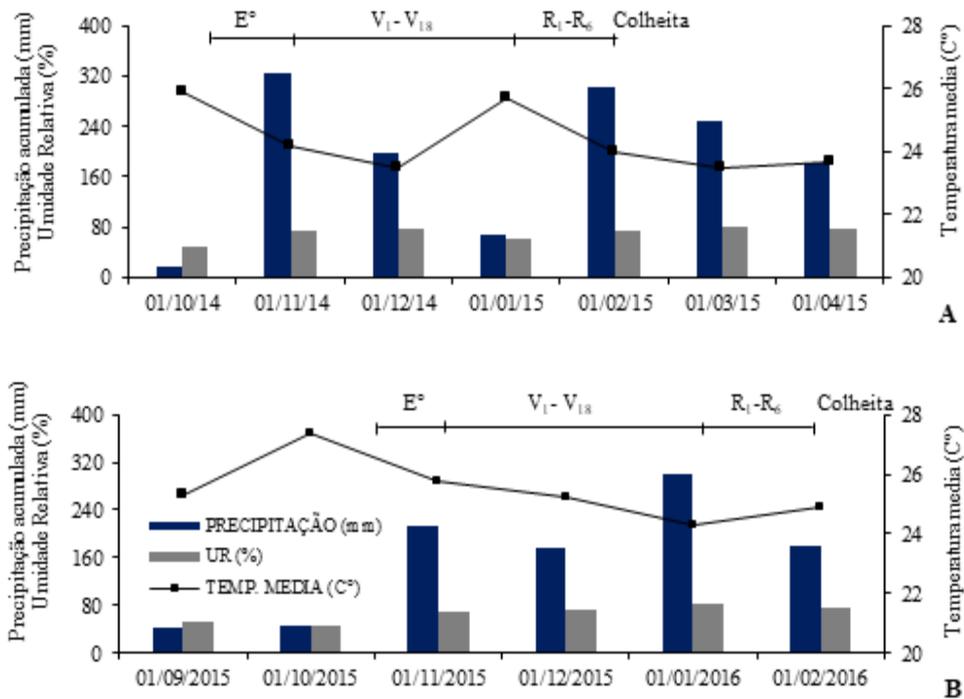
Portanto, existem poucos estudos a respeito do papel do N, com relação à interação entre os eventos e os danos atrelados a adubação. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi identificar o efeito das doses de nitrogênio sobre a resistência de diferentes eventos *Bt*, em transgênicos de milho, com base na análise multivariada, em duas safras.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual de Goiás, localizada no município de Ipameri, GO (Lat. 170 43' 19" S, Long. 480 09' 35" W, Alt. 773 m), em Latossolo Vermelho distrófico, conforme EMBRAPA (2013), na safra de verão de 2014/15 e 2015/2016 (Figura 1).

O preparo do solo foi realizado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, no arranjo fatorial de 6 x 3 (seis híbridos de milho em três doses de nitrogênio). As parcelas apresentavam uma área útil de 3 m<sup>2</sup>, sendo constituída por duas fileiras, com 3 m de comprimento, espaçadas a 0,5 m.

Os híbridos comerciais de milho utilizados e suas respectivas tecnologias foram o 20A55Hx – “A” (Cry1F), 30A77PW – “B” (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), AG1051 – “C” (convencional – testemunha), MG652PW – “D” (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), NS90VTPro2 – “E” (Cry1A.105/Cry2Ab2/CP4-EPSPS) e NS92VTPro – “F” (Cry1A.105/Cry2Ab2).



**Figura 1.** Precipitação acumulada (■), umidade relativa (■) e temperatura média (—), no município de Ipameri, GO, durante os meses de cultivo do milho. Fonte: INMET (2019).

A adubação para a cultura do milho foi realizada de acordo com a Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999), com base na análise de solo (Tabela 1), para uma produtividade estimada de 8 ton. ha<sup>-1</sup>. Na adubação de semeadura, apenas as doses de nitrogênio (N) variaram, sendo zero de nitrogênio (baixa disponibilidade), 80 kg ha<sup>-1</sup> (disponibilidade intermediária) e 160 kg ha<sup>-1</sup> (disponibilidade adequada ou alta), mais 120 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 90 kg de ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio (KCl), sendo o N parcelado em duas doses equitativas, na semeadura e, em cobertura, no estágio V<sub>6</sub>, distribuídos de forma manual, ao lado do sulco de semeadura.

A semeadura foi realizada em novembro, de forma manual, com cinco sementes por metro linear, com posterior desbaste, no estágio V<sub>3</sub>, o qual se estabeleceu um estande final de 55.000 plantas por hectare. No estágio V<sub>4</sub>, realizou-se o controle das plantas daninhas, com o herbicida a base de benzoilciclohexanodiona, na dose de 240 ml ha<sup>-1</sup>, com pulverizador costal, aliado a capina manual. O controle de lagartas foi realizado apenas no híbrido convencional (AG1051), com o inseticida a base de flubendiamida, na dose de 150 ml ha<sup>-1</sup>, no estágio V<sub>5</sub>, após monitoramento e apenas uma vez.

**Tabela 1.** Características químicas do solo utilizado no experimento, na camada de 0 a 20 cm, na safra 2014/15, antes da adubação.

SOLO	pH	M.O.	P <sub>Melich</sub>	H+Al	K <sup>+</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	AL	CTC	V%
	CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	cmolcdm <sup>-3</sup>			%			
0 – 20 cm	5,43	22,6	1,25	2,06	0,11	2,03	0,9	0,0	5,2	59,1
20 – 40 cm	4,78	18,6	0,50	2,70	0,9	1,06	0,6	0,3	4,3	36,5

pH – acidez ativa, M.O. – Matéria orgânica, P – Fósforo disponível, H+Al – acidez potencial, k – Potássio disponível, Ca – Cálcio trocável, Mg – Magnésio trocável, AL - alumínio, CTC – Capacidade de troca catiônica efetiva, V% - Saturação por bases.

Foram feitas estimativas visuais de cada parcela, com uma escala de notas (Tabela 2), com variação entre 0 e 9, para avaliação dos danos da *S. frugiperda* no cartucho e folhas do milho, adaptada por Davis et al. (1992), para as estimativas dos danos em estádios distintos, 30 (DANO30), 70 (DANO70) e 110 (DANO110) dias após a semeadura (DAS). Em cada avaliação foram utilizadas três plantas, tomadas ao acaso e atribuída uma média à parcela. Aos 70 dias após a semeadura, foram avaliadas as taxas fotossintéticas, com a utilização de um clorofilômetro, modelo CFL 1030, em cinco plantas por parcela, após as medições, transformados em média por parcela, denominado de índice de clorofila foliar (ICF), em unidades SPAD.

A colheita foi realizada quando as espigas apresentaram ponto de maturação fisiológica, com umidade em torno de 30%, os quais foram colhidas todas as espigas das parcelas manualmente. Posteriormente, avaliou-se diâmetro da espiga (DIAME), que foi obtido a partir da média de cinco espigas tomadas ao acaso, sendo atribuída a média à parcela, com o auxílio de um paquímetro digital graduado, em milímetros; comprimento de espiga (COMPE), com o auxílio de uma régua graduada, mediu-se o comprimento de cinco espigas tomadas ao acaso, sendo a média atribuída a parcela, em centímetros; porcentagem de espigas sem danos (PESD), a partir da contagem das espigas sem injúrias causadas por lagartas, com base no número total de espigas da parcela, posteriormente, transformados em porcentagem, sendo calculado com base na presença ou ausência do dano na espiga.

A produtividade de grãos (PROD) foi obtida a partir da massa de grãos, em kg, resultantes da debulha total das espigas de cada parcela, sendo os valores obtidos corrigidos para a umidade de 13%, posteriormente, transformados para kg ha<sup>-1</sup>; peso de 1.000 grãos (P1000), o qual separou-se mil grãos, ao acaso de cada parcela, realizou-se a pesagem, e posteriormente, transformados para 13% de umidade em gramas.

**Tabela 2.** Escala de notas de danos causados por *Spodoptera frugiperda* adaptada por Davis et al. (1992).

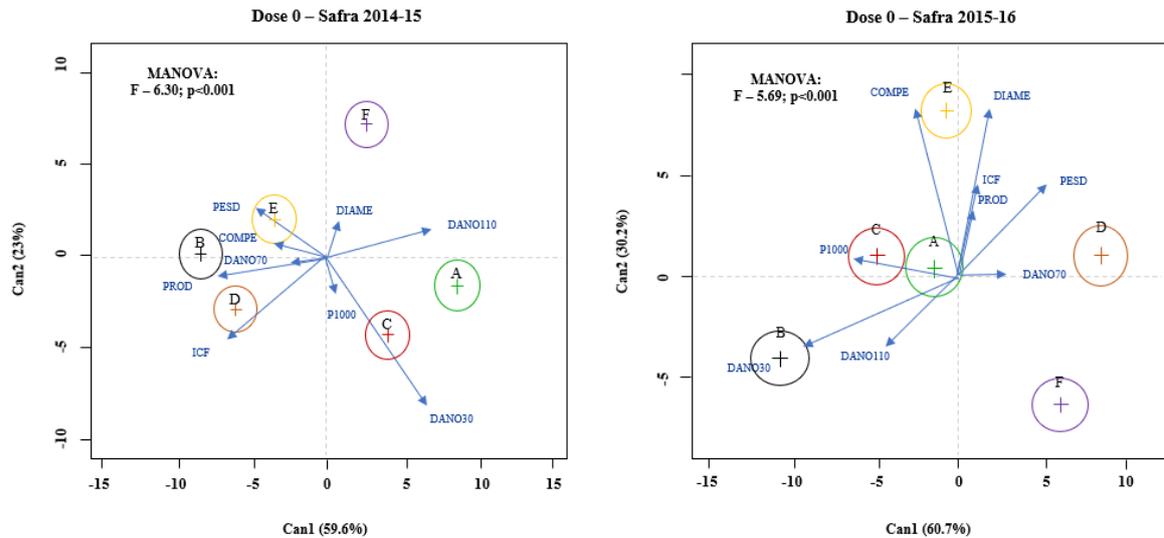
Nota	Descrição
0	Nenhum dano nas folhas
1	Perfurações diminutas em algumas folhas
2	Pequenas quantidades de perfurações arredondadas em algumas folhas
3	Perfurações arredondadas em várias folhas
4	Perfurações arredondadas e lesões em algumas folhas
5	Lesões em várias folhas
6	Grandes lesões em várias folhas
7	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) em algumas folhas
8	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) em várias folhas
9	Grandes lesões e porções comidas (dilaceradas) na maioria das folhas

Para interpretação dos dados foi feita a análise de variância univariada, verificou-se a significância do teste F e, logo após, a análise multivariada (MANOVA), o qual o conjunto de variáveis foi agrupado de acordo com suas características e, em análise gráfica. A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para caracterizar os cultivares e variáveis, bem como as relações com os eventos e as doses de nitrogênio. A técnica ACP gerou variáveis latentes ortogonais, com centro na região de maior concentração da variabilidade e, para isso, foi utilizada a matriz de covariância dos dados, da qual foram extraídos os autovalores que originam os autovetores (componentes principais - PCs), que são combinações lineares das variáveis originais, no programa computacional R (DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados dos componentes principais (ACP) ocorre quando um número relativamente pequeno de componentes extraídos possuem a capacidade de explicar grande parte da variabilidade dos dados originais (RIBAS e VIEIRA, 2011). Adicionalmente, confirmado pela significância da MANOVA e pela variação média explicada por cada componente principal. Na safra 2014/15 o plano bidimensional gerado com os dois primeiros componentes principais (CP) correspondeu a 82,6% da informação contida nos dados originais, e na safra de 2015/16 a 90,9% (Figura 2). Tais resultados estão de acordo com os critérios estabelecidos por Sneath e Sokal (1973), em que o número de CP utilizado na interpretação deve ser tal que explique no mínimo 70% da variação total dos dados.

As variáveis são representadas por vetores e suas projeções nos gráficos, em que, o comprimento do vetor determina o grau de influência da variável estudada, sendo que, quanto maior o vetor maior a influência da variável para a análise. Dessa forma, as variáveis com alto índices de correlação na safra de 2014/15 foram de DANO 30, DANO 110, ICF e produtividade. Adicionalmente, na safra de 2015/16 as variáveis de índices satisfatórios de correlação foram DIAME, PESD, COMP, DANO 30 e DANO 110 (Figura 2A e 2B).



**Figura 2.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, sem aplicação de nitrogênio ( $0 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 - danos aos 30 dias; DANO70 - danos aos 70 dias; DANO110 - danos aos 110 dias após semeadura; ICF - índice de clorofila; COMP - comprimento da espiga; DIAME - diâmetro da espiga; P1000 - peso de mil grãos; PESD - porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C - convencional), MG652PW (D), NS90VTPro2 (E) e NS92VTPro (F).

Segundo a ACP, o híbrido AG1051 (convencional) demonstrou maiores danos em 30 dias (DANO30), seguido pelo híbrido 20A55Hx que demonstrou maiores danos aos 110 dias (DANO 110) (Figura 2A). Tais resultados foram semelhantes devido ao híbrido 20A55Hx expressar em sua composição somente uma proteína inseticida, sendo assim, não desenvolve uma boa resistência a *Spodoptera frugiperda* no desenvolvimento completo do milho, somente durante uma parte do seu desenvolvimento. Corroboraram com os resultados, Bernini et al. (2019), que estudaram a influência dos danos foliares causados por lagartas-do-cartucho em híbridos de milho (transgênicos e convencionais) concluíram que os maiores danos no estágio vegetativo da cultura foram em cultivares convencionais (AL BANDEIRANTE e F2DAS2B710 x F2A2555), e que o híbrido transgênico DKB230 PRO3 obteve danos a partir do pendoamento da cultura. Os autores justificaram os resultados na

composição das cultivares, em que, uma planta *Bt* ser classificada como piramidada, as combinações das proteínas expressas devem ser tóxicas para a mesma praga alvo, ou não piramidada em que, as proteínas agem de forma independentes (Bernini et al., 2019).

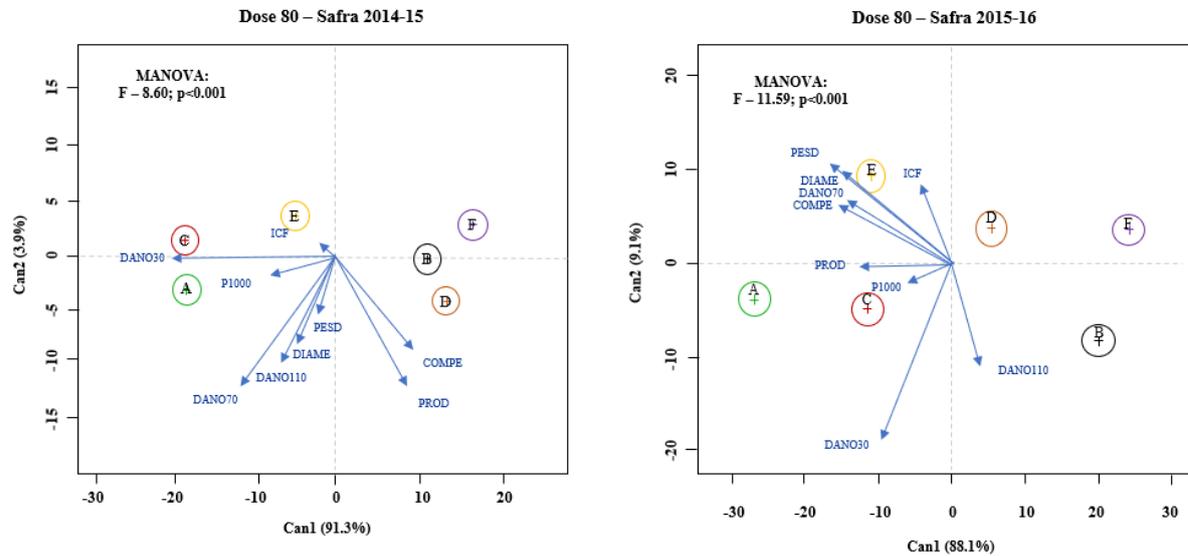
Adicionalmente, na safra de 2015/16 obteve resultados semelhantes a safra 2014/15, somente com a inclusão do híbrido 30A77PW com maiores índices de danos aos 30 e 110 dias (Figura 2B). Esses resultados podem estar associados as condições da praga se portar com a composição da tecnologia inserida na cultivar, as proteínas Cry1A.105 + Cry2Ab se caracterizam por estabelecer resistência a determinados lepidópteros da parte aérea e no modo de ação ligados em receptores específicos do inseto alvo. Enquanto, as proteínas Cry1Ac/Cry1F são caracterizadas por não serem piramidadas para a *S. frugiperda* (ARAGÃO et al., 2011). Simionato et al. (2020), ao avaliarem o controle de lagartas em diferentes tecnologias de milho *Bt*, o híbrido PowerCore obteve 52% de danos comparados a testemunha (convencional), devido a tecnologia inserida no híbrido não desenvolver uma boa resistência em relação a *Spodoptera frugiperda*.

Em relação as doses nitrogenadas de 80 kg ha<sup>-1</sup> os dois componentes principais foram responsáveis por 95,2% e 97,1% da informação contida nos dados originais, na safra 2014/15 e 2015/16, respectivamente. As variáveis com maiores índices de correlação com os componentes principais foram DANO30, DANO70, PROD e COMPE na primeira safra e DANO30, PESD, DIAME e COMP na safra seguinte (Figura 3A e 3B).

Os resultados evidenciaram que na adubação intermediária de nitrogênio, em meados do veranico no estágio vegetativo, na safra de 2014/15, os híbridos 30A77PW, MG652PW e NS92VTPro proporcionaram incrementos mais produtivos em relação aos demais (Figura 3A). Adicionalmente, o híbrido 20A77PW ofereceu menor DANO30, similar aos híbridos MG652PW e NS92VTPro. Entretanto, aos índices de DANO70 e DANO110 o híbrido NS92VTPro proporcionou menores índices referente ao ataque de *Spodoptera frugiperda* (Figura 3A). Tais resultados similares entre os híbridos com tecnologia *Bt* devem estar relacionados a composição e expressão de genes semelhantes (Cry1A.105 e Cry2ab2) entre as cultivares, que emergem, em condições favoráveis de crescimento da cultura, resistência ao ataque de lagartas pontuais na cultura do milho.

Além disso, o incremento de tecnologias no manejo da cultura possibilita a maior eficiência do nutriente, potencializando o valor nutricional, a produção e os componentes produtivos do milho (SOUZA et al., 2019). Tais resultados corroboraram com Souza et al. (2019), ao avaliarem doses de nitrogênio e inoculação com *Azospirillum brasilense* no milho relataram que a inoculação e adubação nitrogenada proporcionaram o controle das pragas, melhor nutrição e desenvolvimento e incrementos na produtividade. Os autores discutem tais

resultados em relação a sinergia da inoculação do microrganismo com a adubação possibilitou melhores características do nutriente a cultura do milho (SOUZA et al., 2019).



**Figura 3.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, com aplicação de nitrogênio na dose de 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 - danos aos 30 dias; DANO70 - danos aos 70 dias; DANO110 - danos aos 110 dias após semeadura; ICF - índice de clorofila; COMP - comprimento da espiga; DIAME - diâmetro da espiga; P1000 - peso de mil grãos; PESD - porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C - convencional), MG652PW (D), NS90VTPro2 (E) e NS92VTPro (F).

Entretanto, na safra 2015/16, as proteínas expressas no híbrido NS90VTPro2 ofereceram melhores características em grande parte das variáveis estudadas, tais como, o maior diâmetro de espiga, que foi correlacionado com maior PESD, e maior comprimento de espiga e índice de clorofila foliar, porém apresentou um maior dano aos 70 dias. Estes resultados estão associados ao N caracteriza como um dos principais componentes do sistema fotossintético, e o milho ser uma planta C4, apresenta uma elevada taxa fotossintética (TAIZ et al., 2017). Dessa forma, o híbrido NS90VTPro2 apresentou um elevado teor dessa taxa, o que resultou em um maior dano nas plantas devido a atração das lagartas ao acúmulo de nitrogênio. Corroborando com os resultados, Primavesi (2003) relatou que o excesso de um nutriente sempre provocará doença ou atrairá alguma praga vegetal, dessa forma, o aumento na dose de N para 80 kg ha<sup>-1</sup> poderá ter sido o motivo para o dano aos 70 dias.

Contudo, este híbrido está correlacionado ao AG1051, que proporcionou melhores resultados em relação a produtividade, a maior produtividade, evidenciou-se que o dano aos 70 dias não comprometeu o rendimento dos grãos e o desenvolvimento da cultura. Além

disso, o híbrido apresentou susceptibilidade para os danos aos 30 dias e aos 110, porém não interferiu em sua produtividade, devido ao fato de ser um híbrido duplo que apresenta maior tolerância (Figura 3).

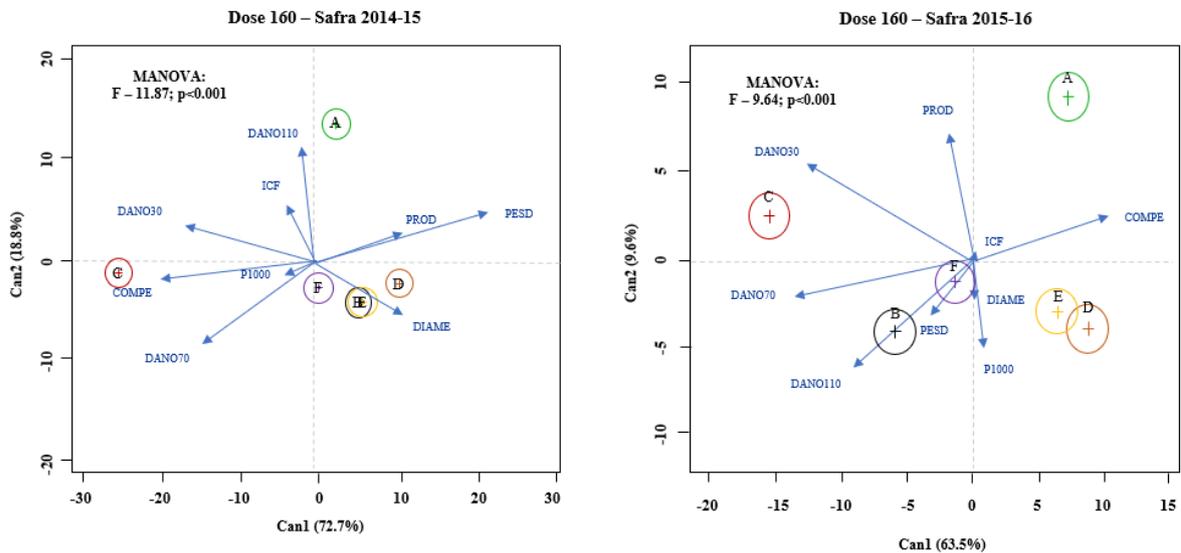
Os híbridos duplos (HD) são caracterizados por ter boa produção, menor uniformidade, preços mais acessíveis e maior variabilidade genética em relação aos híbridos simples (HS), pois são os resultados do cruzamento de dois HS [(A x B) x (C x D)]. Entretanto, os HS apresentam alto potencial produtivo, resultado do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas divergentes (linhagem A x linhagem B). Suas sementes possuem elevado custo de produção, devido à baixa produtividade da linhagem endógama utilizada como fêmea, sendo recomendados para produtores que utilizam alta tecnologia de produção (SAWAZAKI E PATERNIANI, 2004; CRUZ et al., 2010). Estudos similares foram observados por Farinelli & Lemos (2010), que obtiveram produtividade máxima dos grãos com dose de 92 kg ha<sup>-1</sup> de N. Contudo, Silva et al. (2014) obtiveram maior produtividade com o AG1051 utilizando a dose 70 kg ha<sup>-1</sup> de N combinados com 120 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Além disso, os híbridos NS92VTPro e MG652PW demonstraram melhor eficiência no controle de lagartas no início do estágio vegetativo, com menores taxas de DANO30 (Figura 3B). Apesar da tecnologia *Bt* ser de extrema importância a cultura do milho devido a eficiência no controle de lagartas, o uso excessivo e incorreto contribui para o surgimento de novas populações e resistência a tecnologia. Então o manejo correto estabelecido no experimento garantiu a eficiência das características da cultivares utilizadas. Barcelos e Angeline (2018) estudaram o controle de *Spodoptera frugiperda* utilizando tecnologia *Bt* no milho, concluíram que as tecnologias Powercore (2B587PW) e Viptera3 (Impacto) apresentaram efetivas na proteção da cultura em relação as lagartas. Os autores evidenciam que tais resultados são associados a tecnologia *Non-Bt*, em que as populações ainda eram susceptíveis à ação das proteínas tóxicas Cry1Ab composta nos híbridos.

O plano bidimensional gerado com os dois primeiros componentes principais (CP) correspondeu a 91,5 e 83,1% da informação contida nos dados originais, para safra 2014/15 e 2015/16 respectivamente, estando de acordo com os critérios pré-estabelecidos. Na primeira safra os compostos que apresentaram maiores coeficientes de correlação foram PESD, COMPE, DANO30, DANO70, DIAME e DANO110. Na safra seguinte os compostos de danos (DANO30, DANO70 e DANO110) foram os que possuem maior correlação, além de COMP e PROD (Figura 4A e 4B).

As doses adequadas de nitrogênio e a presença de outro fator limitante, o estresse hídrico que ocorreu, na safra 2014/15, o comportamento dos híbridos MG652PW, NS92VTPro, 30A77PW e NS90VTPro2 foram similares, demonstrando uma padronização do

diâmetro da espiga (Figura 4). Além disso, esses híbridos apresentaram resposta positiva em relação à resistência ao ataque de *Spodoptera frugiperda*, sendo os mais produtivos e correlacionando essa variável (PROD) e maior porcentagem de espigas sem danos (PESD), e não apresentando danos foliares consideráveis (DANO 30 e DANO 110). Dessa forma, na presença de outros fatores limitantes, no caso o estresse hídrico, a piramidação de genes é de suma importância na resposta ao ataque de *S. frugiperda* e contribui para a produtividade dos híbridos. Lima e Assmann (2015) observaram resultados positivos nos híbridos com tecnologia VTPro3, VIPTERA e POWERCORE comparadas com as tecnologias TL, VTPro e HERCULEX, todas apresentaram controle mais efetivo para *S. frugiperda*, provavelmente pelo maior acúmulo de alelos.



**Figura 4.** Análise de componentes principais pela dispersão de híbridos de milho, com aplicação de nitrogênio na dose de 160 kg ha<sup>-1</sup> de N, em duas safras agrícolas (2014/15 e 2015/16).

DANO30 - danos aos 30 dias; DANO70 - danos aos 70 dias; DANO110 - danos aos 110 dias após semeadura; ICF - índice de clorofila; COMP - comprimento da espiga; DIAME - diâmetro da espiga; P1000 - peso de mil grãos; PESD - porcentagem de espigas sem danos; PROD - produtividade média, nos híbridos 20A55Hx (A), 30A77PW (B), AG1051 (C - convencional), MG652PW (D), NS90VTPro2 (E) e NS92VTPro (F).

Entretanto, o híbrido AG1051 (convencional) evidenciou maiores danos em relação as demais cultivares dos 30 e 70 dias, o que influenciou diretamente nos índices produtivos da cultura, apesar de obter melhores resultados no comprimento (COMP) (Figura 4A). Na safra 2015/16 os resultados foram similares (Figura 4B). A utilização de cultivares convencionais não ocorre a expressão de proteínas *Bacillus thuringiensis* em milho que ocorre a variedade de acordo com a cultura do milho e a interação da tecnologia com as variáveis biológicas de

sobrevivência larval, período letal e biomassa de ovos (SANTOS et al., 2016), ocasionando maiores danos em relações aos cultivares com esta tecnologia. Barcelos e Angeline (2018) observaram que aos 21 dias os híbridos Powercore e Viptera3 apresentaram menores índices de lagartas pequenas em relação ao milho convencional, demonstrando melhor eficiência de controle em relação as cultivares convencionais.

Adicionalmente, na safra 2015/16, os híbridos 30A77PW e NS92VTPro relataram os maiores danos aos 110 dias (DANO110) e PESD, sendo que o PESD teve menor influência nos híbridos do que o DANO110 (Figura 4B). Os híbridos NS90VTPro2 e MG652PW apesar de terem apresentado os menores danos no início da cultura (DANO30), no estágio intermediário do ciclo apresentaram danos significativos (DANO70 e DANO110). A produtividade tem pouca relação com as outras características estudadas, sendo o híbrido 20A55Hx o que apresentou maior produtividade seguido do convencional – AG1051, e, posteriormente, os híbridos com mais de uma tecnologia. Neste caso o acúmulo de mais de uma tecnologia não foi responsável por diminuir os danos causados por *S. frugiperda* e, conseqüentemente, atingir maiores produtividades.

A incidência de menores danos ao controle de lagartas no milho está associado em partes ao melhoramento genético, caracterizado por adotar técnicas que permitem, identificar quais genótipos são mais favoráveis à adaptação e, por meio de intercruzamento de plantas, promover uma elevação no potencial genético da planta gerida (PACE et al., 2015). Corroborando com os resultados, Marega e Marques (2021) ao avaliarem o desempenho do milho na infestação de pragas concluíram que cultivares de milho (convencional, híbrido simples e duplos) apresentam desempenho variável com relação à sua resistência contra pragas e quanto as características fitotécnicas da cultura.

O aumento das doses de N não foi capaz de reduzir o ataque de *Spodoptera frugiperda* tendo em vista que para todas as doses os DANO30, DANO70 e DANO110, demonstraram alta influência nos resultados. Entretanto, o aumento das doses de nitrogênio não foi responsável por maior atração do inseto pela planta, visto que na adubação de 160 kg ha<sup>-1</sup> N o ICF teve pouca influência nos resultados e não teve correlação com DANO70 e DANO110. Martins Junior et al. (2021), ao avaliarem o desempenho do milho com diferentes doses de adubação nitrogenada concluíram que a utilização de inoculação com *A. brasilense* e redução de 15% da adubação nitrogenada em cobertura, evidenciou resultados na promoção de crescimento e desenvolvimento vegetativo (altura das plantas e massa seca da inflorescência). Contudo, a utilização de nitrogênio não demonstrou resultados positivos na produtividade.

## CONCLUSÕES

As diferentes doses de nitrogênio não interferiram na resistência de forma marcante sob o ataque de *Spodoptera frugiperda* e observa-se um comportamento similar entre os híbridos convencional e o com tecnologia isolada Cry1F.

O híbrido NS90VTPro2 destacou-se para as variáveis e condições distintas de ambiente.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSIO, R.; PAULETTI, V.; BARTH, G.; POVH, F. P.; SILVA, D. A. D.; BLUM, H. Energy potential of residual maize biomass at different spacings and nitrogen doses. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 6, p. 626-633, 2017.
- ARAGÃO, F.J.L.; ANDRADE, P.P.; BORÉM, A. Variedades com eventos piramidados. **Resistência de insetos-pragas a plantas geneticamente modificadas. Plantas geneticamente modificadas: Desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Ed. Aluizio Borém; Gustavo Almeida. Viçosa –MG. p. 139-158, 2011.
- BARCELOS, P. H. S.; ANGELINE, M. R. Controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em diferentes tecnologias bts (*Bacillus thuringiensis*) na cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 1, p. 35-40, 2018.
- BATISTA, V.; OLIGINI, K.; GIARETTA, R.; RABELO, P.; ADAMI, P.; LINK, L. Densidade de plantas e doses de nitrogênio no cultivo de milho safrinha no Paraná. **Agrarian**, v. 12, n. 45, p. 296-307, 2019.
- BERNARDI, O.; SORGATTO, R.J.; BARBOSA, A.D.; DOMINGUES, F.A.; DOURADO, P.M.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33–40, 2014.
- BERNINI, C. S.; OLIVEIRA, T. A.; FIGUEIREDO, Z. N. The influence of foliar damage by the fall armyworm on transgenic and conventional maize hybrids. **Revista UNINGÁ Review**, v. 34, n. 4, p. 12-23, 2019.
- CARGNELUTTI FILHO, A.; TOEBE, M.; BURIN, C.; CASAROTTO, G.; LÚCIO, A.D. Métodos de estimative do tamanho ótimo de parcelas experimentais de híbridos de milho simples, triplo e duplo. **Ciências Rural**, v.41, n. 9, p. 1509-1516, set, 2011.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**. v.7, n.10, jul., 2021.

CRUZ, J. C.; FILHO, I. A. P.; GARCIA, J. C.; DUARTE, DE OLIVEIRA J. **Cultivo do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. ed.6, 2010. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/27051/1/Cultivares.pdf>>. Acesso em: 10 Jul 2020.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Produtividade e eficiência agrônômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos de solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.9, p.135-146, 2010.

FATORETTO, J. C., MICHEL, A. P., SILVA FILHO, M. C., & SILVA, N. Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits Bt trait durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, n. 1, p. 17, 2017.

FEDERAÇÃO DE INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO – FIESP. **Safra Mundial de Milho 2021/22: 7º Levantamento do USDA**. São Paulo, 2021.

FERNANDES, J. D.; CHAVES, L. H. G.; MONTEIRO FILHO, A. F.; VASCONCELLOS, A.; SILVA, J. D. Crescimento e produtividade de milho sob influência de parcelamento e doses de nitrogênio. **Revista Espacios**, v. 38, n. 8, p. 27, 2017.

GALINDO, F. S. et al. Corn yield and foliar diagnosis affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 40, p. 1–18, 2016.

GOUIN, A.; BRETAUDEAU, A.; NAM, K. Two genomes of highly polyphagous lepidopteran pests (*Spodoptera frugiperda*, Noctuidae) with different host-plant ranges. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

JANDREY D. B. **Manejo de nitrogênio em milho safrinha**. 2016. Disponível: <<http://www.pioneersementes.com.br/blog/84/manejo-de-nitrogenio-em-milho-safrinha>>. Acesso em: 07 de Jun de 2020.

LIMA, L.G.; ASSMANN, E.J. Desfolha causada pela *Spodoptera frugiperda*, em milho com diferentes biotecnologias. **Revista cultivando o saber**, n.1, p. 56-66, 2015.

MAREGA, G. M.; MARQUES, M. A. Performance of corn cultivars on the infestation and damage of pests insects and phytotechnical characteristics of the culture. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v.4, n.2, p. 2736-2748, 2021.

MARTINS JUNIOR, J. A. S.; FREITAS, J. M.; REZENDE, C. F. A. Corn productivity associated with inoculation with *Azospirillum brasilense* and different doses of nitrogen fertilization. **Research, Society and Development**, v. 10, n.2, e42810212711, 2021.

MONNEVEUX P.; ZAIDI, P. H.; SANCES, C. Population density and low nitrogen affect yield-associated traits in tropical maize. **Crop Science**, v. 45, n. 2, p. 535-545, 2005.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. D.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n. 2, p. 286-300, 2018.

MOORE, V. M.; TRACY, W. F. Survey of organic sweet corn growers identifies corn earworm prevalence, management and opportunities for plant breeding. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 36, n. 2, p. 126-129, 2021.

NASCIMENTO, J. P. **Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho transgênicos na safrinha subtropical**. 2016. 69 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

NIELSEN, R. L. **Short husks & exposed ears**. Corny News Network (Purdue University Department of Agronomy) August, 2018. Disponível em: <<https://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/EarHusks.html>>. Acesso em: 10 Jul 2020.

NIU, Y. et al. Populations of *Helicoverpa zea* (Boddie) in the southeastern united states are commonly resistant to cry1ab, but still susceptible to vip3aa20 expressed in mir 162 corn. **Toxins**, v. 13, n. 1, p. 1–14, 2021.

OMOTO, C.; BERNARDI, O. Estratégias de manejo podem prolongar vida útil das tecnologias de milho Bt. *Visão Agrícola*, v. 13, p. 107–109, 2015.

PAULA-MORAES, S.V.; SILVA, FMA.; SPECHT, A. 3 Options and Challenges for Pest Control in Intensive Cropping Systems in Tropical Regions. **Integrated Pest Management in Tropical Regions**, p. 18, 2017.

PAVINATO, P. S.; CERETTA, C. A.; GIROTTO, E.; MOREIRA, I. C. L. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 358-364, 2008.

PACE, J.; YU, X.; LUBBERSTEDT, T. Genomic prediction of seedling root length in maize (*Zea mays* L.). **The Plant Journal**, v. 83, n. 5, p. 903-912, 2015.

PRIMAVESI, A. **Agroecologia: solo-planta-água-nutrição-saúde**. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Encontro de agroecologia. Centro de Comunicação Rural, Campinas, p.1-21, 2003.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Austria, 2009.

RAASCH H.; SCHONINGER E. L.; NOETZOLD R.; VAZ D. C.; SILVA J. D. Doses de nitrogênio em cobertura no milho de segunda safra em Nova Mutum–MT. **Revista. Cultivando o Saber**, v. 9, n. 4, p. 517-529, 2016.

RAMOS, A. A. **Adubação antecipada e a lanço no milho safrinha**. 2014. Disponível: <<http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/171/adubacao-antecipada-e-alanco-no-milho-safrinha>>. Acesso em: 06 de junho de 2020.

RAY, K.; BANERJEE, H.; DUTTA, S.; HAZRA, A. K.; MAJUMDAR, K. Macronutrients influence yield and oil quality of hybrid maize (*Zea mays* L.). **PLoS ONE**, v. 14, n. 5, p. 1–24, 2019.

RIBAS, J. R.; VIEIRA, P. R. da C. **Análise Multivariada com o uso do SPSS**. Rio de Janeiro: Editora Ciência Moderna. p. 272, 2011.

RODRIGUES, F. J.; BACAROL, M. A.; ADAMS, C. R.; KLEIN, C.; BERWANGER, A. L. Agronomic efficiency of maize crop under different nitrogen sources in coverage. **Uniciências**, v. 22, n. 2, p.66-70, 2018.

ROEL, A. R.; SOARES, J. A. L.; PERUCA, R. D.; PEREIRA, L. C.; JADOSKI, C. J. Occurrence in field and development lab *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Noctuidae) in corn with organic fertilizer and Chemical. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v.10, n.1, p.67-73, 2017.

SAMPAIO, H. N.; DE FC BARROS, M.; DE OLIVEIRA, J. V.; LIMA, F. D. S.; PEDROSA, E. M. Efeito de doses de nitrogênio e potássio nas injúrias provocadas por *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Revista brasileira de ciências agrárias**, v. 2, n. 3, p. 219-222, 2007.

SANTOS, C.A.S.; MARUCCI, R.C.; BARBOSA, T.A.N.; ARAUJO, O.G.; WAQUIL, J.M.; DIAS, A.S.; HEBACH, F.C.; MENDES, S.M. Desenvolvimento de *Helicoverpa* spp. em milho Bt com expressão de diferentes proteínas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.5, p. 537-544, maio, 2016.

SAWAZAKI, E.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z (2004). Evolução dos cultivares de milho no Brasil. In J. C. C. GALVÃO.; G. V. MIRANDA (Eds.), **Tecnologias de produção do milho** (20th ed., Vol. 1, pp. 13-53). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004.

SILVA, G. F. D.; DE OLIVEIRA, F. H.; PEREIRA, R. G.; SILVA, P. S.; DIÓGENES, T.; SILVA, A. R. D. C. Doses de nitrogênio e fósforo para produção econômica de milho na Chapada do Apodi, RN. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 12, p. 1247-1254, 2014.

SIMIONATO, R. S.; NUNES, J.; NEPOMOCENO, T. A. R.; MOSCARDINI, V. F. Controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* a partir de diferentes tecnologias de milho *Bts*. **Revista Cultivando o Saber**, v.13, n.2, p. 9-18, 2020.

SNEATH, P. H. e SOKAL, R.R. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification. **1ª ed. San Francisco**, W. H. Freeman, 573p. 1973.

SOUZA, C. S. F.; SILVEIRA, L. C. P.; PAULA, D. P.; ANDOW, A. D.; MENDES, S. M. Transfer of Cry1F from *Bt* maize to eggs of resistant *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, p. 1–11, 2018.

SOUZA, L. C. F. de; FREITAS, M. E.; LOURENTE, E. R. P.; SERRA, A. P.; RECH, J.; FROTA, F.; LOUREIRO, G. E. S. The effects of crop rotation systems on maize agronomic traits under no-tillage in optimal and dry cropping seasons. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 2369-2377, 2016.

SOUZA, M. P.; NEUMANN, M.; HORST, E. H.; LEÃO, G. F. M.; SLOMPO, D.; DOCHWAT, A.; ALMEIDA, E. R. Morphological composition of the conventional and transgenic corn hybrid plant (*Bt*). **Agropecuária Científica no Semiárido**, v.13, n.1, p.53-58, 2017.

SOUZA, E. M.; GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; SILVA, P. R. T.; SANTOS, A. C.; FERNANDES, G. C. Does the nitrogen application associated with *Azospirillum brasilense* inoculation influence corn nutrition and yield?. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, v.23, n.1, p.53-59, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, ed.6, p.858, 2017.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; BENETT, C. G. S.; A. R. F, O.; SÁ, M. E. de. Adubação nitrogenada do trigo sob plantio direto no Cerrado brasileiro de baixa altitude. **Journal of Plant Nutrition**, v. 37, p. 1732-1748, 2014.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018.

WARREN, G.W.; WRIGHT, M. EVOLA SV. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Nat Biotechnol**. v.11, p. 194–200, 1993.

WOLDESENBET, M.; HAILEYESUS, A. Effect of nitrogen fertilizer on growth, yield and yield components of maize (*Zea mays L.*) in Decha district, Southwestern Ethiopia. **International Journal of Research-Granthaalayah**, v. 4, n. 2, p. 95-100, 2016.

XING, Y.; QIN, Z.; FENG, M.; & LI, A.; ZHANG, L.; WANG, Y.; DONG, X.; ZHANG, Y.; TAN, S.; SHI, W. The impact of *Bt* maize expressing the cryIac protein on non-target arthropods. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 26, n. 6, p. 5814–5819, 2019.

ZUCARELI, C.; ALVES, G. B.; OLIVEIRA, M. A.; MACHADO, M. H. Desempenho agrônômico do milho safrinha em resposta às épocas de aplicações e fontes de nitrogênio. **Científica**, v. 42, n. 1, p. 60-67, 2014.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo de novas estratégias e associação de tecnologias é essencial para o aprimoramento do desenvolvimento da cultura do milho. A utilização de diferentes doses de nitrogênio e de potássio não demonstraram interferência nos materiais frente ao ataque de lagartas *Spodoptera frugiperda*. Os híbridos que expressaram as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 de forma combinada, aliada ou não à proteína Cry1F, obtiveram melhor desempenho no controle de lagartas, porém a proteína Cry1F isolada não proporcionou controle efetivo. Portanto, o monitoramento da eficiência de tecnologias de milho *Bt* para o controle de *S. frugiperda* se torna essencial para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficientes, sustentáveis e que diminua os custos produtivos ao produtor rural.

## REFERÊNCIAS

- ALTMAYER ROCKENBACH, M. D.; RASCHE ALVAREZ, J. W.; FATECHA FOIS, D. A.; TIECHER, T.; KARAJALLO, J. C.; AGUAYO TRINIDAD, S. eficiência da aplicação de *Azospirillum brasilense* associado ao nitrogênio na cultura do milho. **Acta Iguazu**, v. 6, n. 1, p. 33–44, 2017.
- BANERJEE, R.; HASLER, J.; MEAGHER, R.; NAGOSHI, R.; HIETALA, L.; HUANG, F.; NARVA, K.; FUENTES-JURAT, J. Mechanism and DNA-based detection of field-evolved resistance to transgenic *Bt* corn in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **Scientific Reports**, v. 10877, p. 1-10, 2017.
- BEBÉ, F. V.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, G. B.; OLIVERIRA, V. S. Dinâmica do potássio em cana de açúcar fertirrigada com vinhaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, p. 781-787, 2009.
- BERNINI, C. S.; OLIVEIRA, T. A.; FIGUEIREDO, Z. N. The influence of foliar damage by the fall armyworm on transgenic and conventional maize hybrids. **Revista UNINGÁ Review**, v. 34, n. 4, p. 12-23, 2019.
- BERTASELLO, L. E. T.; COELHO, A. P.; MORO, G. V. Genetic divergence of corn genotypes cultivated under nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Agroecossistemas**, v. 12, n. 2, p. 69 – 89, 2020.
- BESEN, M. R.; RIBEIRO, R. H.; GOETTEN, M.; FIOREZE, S. L.; GUGINSKI-PIVA, C. A.; PIVA, J. T. Maize yield and economic return in integrated production system with doses of nitrogen. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n.1, p. 94-104, 2020.
- CAMPELO, D. H.; TEIXEIRA, A. S.; MOREIRA, L. C. J.; LACERDA, C. F. Growth, production and water and nitrogen use efficiency of maize under water depths and nitrogen fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n.10, p. 747-753, 2019.

CHAVEIRO JUNIOR, I. R. **Uso do óleo de nim no controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) na cultura do milho**. 2018. 28p. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia). Centro Universitário de Anápolis-Uni Evangélica, Anápolis.

COCCO, J. **Relações tri-tróficas em milho transgênico envolvendo lepidópteros pragas e seus inimigos naturais em milho transgênico**. 2019. 102p. Tese (doutorado). Universidade Federal do Paraná (Ciências Biológicas) - Programa de Pós-graduação em Zoologia, Curitiba.

COELHO, A. M. **Nutrição e Adubação do Milho**. Circular Técnica, Sete Lagoas, v.78, 2006.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília, v. 9, n.2, 2021.

CRESPO, A. M.; GONÇALVES, D. C.; SOUZA, M. N.; ZANÚNCIO JUNIOR, J. S.; COSTA, H.; FAVARATO, L. F.; RANGEL, O. J. P.; ARAÚJO, J. B. S. **Manejo da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*): panorama geral das atualizações no controle alternativo**. Alegre: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, 2021. 20f.

DAVID, J. P. R.; GODOI, L. A.; PEREIRA, R. M. O efeito de diferentes doses de potássio na adubação de base e cobertura na cultura do milho. In: IV COLÓQUIO ESTADUAL DE PESQUISA MULTIDISCIPLINAR II CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA MULTIDISCIPLINAR., 4, 2019. Mineiros: Unifimes. p. 1-7.

FACCI, J. S.; GIOSA, M. C. **Relações tri-tróficas em milho transgênico envolvendo Lepidópteros pragas e seus inimigos naturais em milho transgênico**. 2020. 15p. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Cesumar (Graduação em Agronomia), Maringá.

GOMES, L. R. **Curva cinética de carboidratos de grãos de milho verde cultivado sob adubação nitrogenada e potássica**. 2018. 35p. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Paraíba (Graduação em Agronomia), Areia.

GUIMARÃES, V. F.; KLEIN, J.; KLEIN, D. K. Liquid inoculant containing of *Azospirillum*

*brasilienses* train, via seeds in the corn crops, associated with nitrogen fertilization promoting productivity gains. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e8210311292, 2021.

HENTZ P, CORRÊA JC, FONTANELI RS, REBELATTO A, NICOLOSO RS, SEMMELMANN C. Poultry Litter and Pig slurry Applications in an Integrated CropLivestock System. **Revista Brasileira Ciências Solo**. 2016.

KUNESKI, H. F.; SANGOLI, L.; COELHO, A.; VOSS, R.; PANINSON, F.; LELATO, L. S.; SOUZA, N. M.; DURLI, M. Rendimento de grãos e eficiência do uso de nitrogênio do milho em função da época de semeadura e do estágio fenológico de realização da adubação nitrogenada de cobertura. In: 62º REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DA PESQUISA DO MILHO, 62, 2017. *Anais...*Lages: 2017, p.54-58.

LIMA JUNIOR, I. S.; DEGRANDE, P. E.; PONTES DE MELO, E.; BERTONCELLO, T. R.; SUEKAN, R. Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. **Revista Agrarian**, v. 5, p. 14-19, 2012.

MELO, A. L.; CASIMIRO, E. L. N. Emergência do milho submetido a diferentes doses de enraizador a base de molibdênio e potássio. **Revista Cultivando o Saber**, v.1, p. 105-111, 2017.

MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; MARUCCI, R. C.; BO REGAS, K. G. B. **Avaliação da incidência de organismos alvo e não alvo em milho *Bt* (Cry1Ab) em condições de campo em Sete Lagoas-MG**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 128).

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**, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011.

MIOZZO, L. C. **Sowing date and fertilizers stabilized as strategies to increase nitrogen efficiency use in maize**. 2017. 103p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre.

MORAIS, M.; AMARAL, H. F.; NUNES, M. P. Desenvolvimento e assimilação de nutrientes da cultura de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* e diferentes doses de nitrogênio e potássio. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 34, n. esp., p. 160-176, 2018.

NETTO, M. O.; ARAÚJO, F. C.; SILVEIRA, L. S.; CUNHA, P. C. R. Épocas, formas de aplicação e doses de nitrogênio na cultura do milho em condições de cerrado. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n. 6, p. 56–66, 2021.

PACHECO, F. B. S.; THEODORO, G. F.; MIYAKE, A. W. A.; RIBEIRO, M. M.; FERNANDES, P. B. Potassium in topdressing and the association of nitrogen with potassium silicate in morphology traits, common smut incidence and maize grain yield. **Research, Society and Development**, v. 10, n.11, e506101119807, 2021.

PEREIRA, B. O. H.; DINIZ, D. A.; REZENDE, C. F. A. Organomineral and mineral fertilization in the agronomic performance of maize and chemical changes in the soil. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.8, p. 58694-58706, 2020.

PORTUGAL, J. R.; ARF, O.; PERES, A. R.; GITTI, D. C.; GARCIA, N. F. S. Cover crops, nitrogen doses, and inoculation with *Azospirillum brasilense*, in maize in the Cerrado. **Revista Ciência Agrônômica**, v.48, n.4, p. 639-649, 2017.

RESENDE, D.C.; MENDES, S.M.; WAQUIL, J.M.; DUARTE, J. de O.; SANTOS, F.A. Adoção da área de refúgio e manejo de resistência de insetos em milho Bt. **Revista de Política Agrícola**, v. 23, p.119128, 2014.

RIBAS, J. R.; VIEIRA, P. R. da C. **Análise Multivariada com o uso do SPSS**. Rio de Janeiro: Editora Ciência Moderna. p. 272, 2011.

SANTANA, A. G.; ÁVILA, C. J.; OLIVEIRA, H. N.; SCHLICK-SOUZA, E. C. Efeito direto e indireto do milho bt sobre o predador *Podisus nigrispinus*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.16, n.2, p. 319-327, 2017.

SANTOS, W. F.; AFFÉRI, F. S.; PELÚZIO, J. M.; SODRÉ, L. F.; ROTILI, E. A.; CERQUEIRA, F. B.; FERREIRA, T. P. S. Genetic diversity in maize under nitrogen restriction conditions. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.5, n. 2, p. 44-53, 2018.

SANTOS, M. V. C.; MENDES, S. M.; TRINDADE, R. S.; LOURENÇONI, L. J.; SANTOS, M. V. C.; FERREIRA, P. Efeito da zigosidade de híbridos de milho Bt em *Spodoptera frugiperda*. In: XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1, 2020, Brasília. *Anais...* Brasília: PIBIC – CNPq 2020. p. 3-12.

SILVA, J. B. G. D.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; TESSMANN, D. J.; MOTERLE, L. M.; SILVA, C. R. Controle de doenças foliares do milho com fosfito de potássio. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.17, n.1, p. 127-138, 2018.

SIMIONATO, R. S.; NUNES, J.; NEPOMOCENO, T. A. R.; MOSCARDINI, V. F. Controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* a partir de diferentes tecnologias de milho Bts. **Revista Cultivando o Saber**, v.13, n.2, p. 9-18, 2020.

SOUSA, F. F.; MENDES, S. M.; SANTOS-AMAYA, O. F.; ARAÚJO, O. G.; OLIVEIRA, E. E.; PEREIRA, E. J. Life-history traits of *Spodoptera frugiperda* populations exposed to low-dose Bt maize. **PloS One**, v. 11, n. 5, e0156608, 2016.

SOUSA, B. T.; ROTTA, W. S.; MINZON, P. R. S.; MARTINS, A. P. C.; ZUCARELI, V. Production of sweet sorghum cultivated with *Azospirillum brasilense* and doses of nitrogen. **Journal of Agronomic Sciences**, v.10, n.1, p.141-146, 2021.

SOUSA FILHO, W. J. **Eficiência de tecnologias de milho bt no controle de *Spodoptera frugiperda***. 2021. 21p. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia). Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Rio Verde.

TAVARES, A. B. G.; GOMES, E. A.; LANA, U. P.; NEGRI, B. F. Monitoramento da comunidade microbiana rizosférica associadas a genótipos de milhos transgênicos Bt comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n.1, p. 1-24, 2017.

TRINDADE, R. B. R.; FERNANDES, M. G.; OLIVEIRA, A. C.; MARTINS, P. H. A. Spatial distribution of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae) in conventional maize and Bt. **EntomoBrasilis**, v.10, n.2, p. 89-93, 2017.

UCHOA, L. R.; ALMEIDA FILHO, I. I.; SOUZA, J. P.; SANTOS, C. F.; SANTOS, D. L. Nim extracts on the control of *Spodoptera frugiperda* in corn. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.13, n. 2, p. 163-169, 2018a.

UCHOA, S. C. P.; PAIN, R. J.; ALVES, J. M. A.; SILVA, D. C. O.; MELO, V. F.; SILVA, S. Doses and potassium partitioning methods in soybean production components in na Amazonian savana. **Revista Agro@mbiente**, v. 12, n. 4, p. 258-271, 2018b.

WANG, Y.; JANZ, B.; ENGEDAL, T.; NEERGAARD, A. Effect of irrigation regimes and nitrogen rates on water use efficiency and nitrogen uptake in maize. **Agricultural Water Management**, v.179, p.271- 276, 2017.