



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**RESISTÊNCIA POR ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO
ATAQUE DO GORGULHO-DO-MILHO.**

TÚLIO MARTINS CAMPOS

Brasília/DF
Dezembro/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**RESISTÊNCIA POR ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO ATAQUE DO
GORGULHO-DO-MILHO.**

TÚLIO MARTINS CAMPOS

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof^a. Dr^a. CRISTINA SCHETINO
BASTOS

Brasília, DF

Dezembro de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

CAMPOS, TÚLIO MARTINS.

“RESISTÊNCIA POR ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO ATAQUE DO GORGULHO-DO-MILHO”. Orientação: Cristina Schetino Bastos, Brasília 2016. 21 páginas.

Monografia de Graduação (G) – Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. *Zea mays*, *Sitophilus zeamais*, Controle de pragas, Variabilidade, Seleção.

I. Bastos, C.S. II. Dra.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CAMPOS, T.M RESISTÊNCIA POR ANTIXESONE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO ATAQUE DO GORGULHO-DO-MILHO. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 21 páginas. Monografia.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do Autor: TÚLIO MARTINS CAMPOS

Título da Monografia de Conclusão de Curso: RESISTÊNCIA POR ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO ATAQUE DO GORGULHO-DO-MILHO

Grau: 3º **Ano:** 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia de graduação e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia de graduação pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

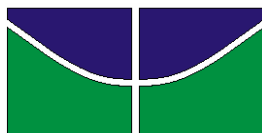
TÚLIO MARTINS CAMPOS

CPF: 04721262108

Rua Augusto de Andrade, Bairro Formosinha, N° 674, Formosa - Goiás

CEP: 73813030, Formosa, GO, Brasil.

(61) 999463854/ email: tulioomcampos@gmail.com



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**RESISTÊNCIA POR ANTIXENOSE DE GENÓTIPOS DE MILHO AO
ATAQUE DO GORGULHO-DO-MILHO.**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr^a. CRISTINA SCHETINO
BASTOS

BANCA EXAMINADORA:

Cristina Schetino Bastos

Doutora, Universidade de Brasília - UnB

Orientadora / email: cschetino@unb.br

Carlos Roberto Spehar

Doutor, Universidade de Brasília - UnB

Examinador / email: spehar@unb.br

Ernandes Rodrigues de Alencar

Doutor, Universidade de Brasília - UnB

Examinador / email: ernandesalencar@unb.br

*Dedico este trabalho a todas as pessoas que sempre torceram pela minha
felicidade e ajudaram meu sonho a se tornar realidade.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar abençoando minha vida e fazendo com que meus planos tenham sucesso.

Aos meus Pais por toda dedicação comigo, desde que nasci e que considero meus heróis.

Ao meu irmão Felipe Campos, que foi o melhor presente de aniversário que eu poderia ganhar em minha vida.

Aos meus familiares, principalmente meus avós e minha madrinha por estarem sempre se preocupando com meu sucesso.

A minha namorada Ana Cristina, que além de tudo é minha melhor amiga e conselheira.

Aos colegas de curso Deborah, Felipe Cardoso, Gabriel Ramos e Raul que fizeram a jornada ser muito mais divertida, em especial ao Maycon Laia por ter sido um irmão que encontrei graças ao curso.

Aos meus amigos Giovanne, More e Waldes que sempre estão ao meu lado quando preciso.

A professora Marina Frizzas, por ter feito eu me apaixonar pela Entomologia e pelos demais professores que contribuíram para meu sucesso acadêmico.

A professora Cristina e ao seu esposo Dr Fábio, por toda dedicação e competência.

CAMPOS, TÚLIO MARTINS. **Resistência por antixenose de genótipos de milho ao ataque do gorgulho-do-milho.** 2016. Monografia (Bacharelado em Agronomia). Universidade de Brasília – UnB.

RESUMO

O milho consiste em um dos principais produtos agrícolas do Brasil. Dentre os diversos estresses que acometem esta cultura, o ataque de pragas é um dos principais componentes de perda na produção. No armazenamento, um dos principais artrópodes-praga é o gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), cujo controle tem sido realizado através de produtos químicos. Este trabalho objetivou testar diferentes híbridos convencionais e transgênicos (contendo toxinas Bt) de milho quanto à resistência por antixenose à *S. zeamais*. Foram realizados 3 bioensaios que tinham como finalidade realizar testes com os genótipos BG7037YH, BG7330H, BG7432H, BG7439H, BG7542H, P2866H, P3161, P3250, P3630H e P3779H. Cada bioensaio consistia de 10 tratamentos que representavam cada um dos genótipos, sendo os tratamentos dispostos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada repetição do bioensaio foi representada por uma arena (recipiente plástico redondo contendo 10 possibilidades de inserção dos genótipos sob teste no interior de saquinhos de organza) que recebeu 50 adultos de *S. zeamais* não sexados, sendo avaliada a densidade de insetos sobre os grãos 12h, 24 h e 48h após o início do ensaio. Em cada avaliação, contabilizava-se o número de insetos no interior de cada saquinho de organza, sobre cada genótipo. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e ANOVA por medidas repetidas, seguidas de teste Tukey e a $p \leq 0,05$. Os genótipos de milho demonstraram variabilidade quando avaliados pela resistência por antixenose ao ataque de *S.zeamais*. O genótipo BG7439H apresentou a maior suscetibilidade ao ataque de *S. zeamais*. Os genótipos BG7542H e BG7037YH apresentaram a maior resistência por antixenose ao ataque de *S.zeamais*. Foi observado que o genótipo P3630H variou quanto a preferência do *S.zeamais* em diferentes tempos de avaliação sendo, ao final do experimento, o mais preferido. A presença das toxinas Bt neste trabalho não influenciaram na densidade da praga nos genótipos de milho.

Termos para indexação: *Zea mays*, *Sitophilus zeamais*, Controle de pragas, Variabilidade, Seleção.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A cultura do milho.....	3
2.2 O gorgulho-do-milho, <i>Sithophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)	4
2.3 Resistências de Plantas	5
2.4 Plantas geneticamente modificadas e o <i>Sithophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)	6
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
5. CONCLUSÕES	16
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

1. INTRODUÇÃO

A produção mundial de milho na safra de 2016/2017, segundo projeções do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), será de aproximadamente 1,1 bilhão de toneladas. Neste panorama, os principais produtores deste cereal são, em ordem de importância, Estados Unidos, China e Brasil (FIESP, 2016). No Brasil, segundo estimativas da Conab (Companhia Nacional de Abastecimento), a safra 2016/2017 de milho será de 85 milhões de toneladas, sendo 28 milhões em primeira safra e em segunda safra 57 milhões de toneladas de grãos. Quanto à área destinada a esta cultura, o total das duas safras será de aproximadamente 16 milhões de hectares, sendo destes, seis milhões destinados à primeira safra e 10 milhões à segunda safra de cultivo (BRASIL, 2016a).

A produtividade potencial da cultura do milho é negativamente afetada por estresses de ordem abiótica e biótica. Sob o prisma biótico, um dos maiores componentes de perdas na produção é o ataque de insetos-pragas. Além disso, na fase de armazenamento o ataque do gorgulho do milho - *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) e da traça dos cereais - *Sitotroga cerearella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) ocasionam perdas qualitativas e quantitativas aos grãos (CRUZ, 2008). Em *S. zeamais*, a capacidade de iniciar sua infestação no campo e atacar os grãos intactos, permanecendo até a fase de armazenamento, justificam a sua importância no sistema produtivo do milho (PACHECO & PAULA, 1995; LORINI et al., 2010).

A principal forma empregada para o controle deste inseto, consiste na utilização de inseticidas. O uso extensivo deste método de controle tem causado uma série de questionamentos ligados a contaminação ambiental, desenvolvimento de resistência a inseticidas por parte das pragas, presença de resíduos nos grãos, efeitos adversos em organismos não alvo, além do alto custo (PEDIGO, 2002). O desenvolvimento de variedades resistentes a artrópodes desponta como excelente alternativa, uma vez que toda a tecnologia está inserida na semente, além de possuir compatibilidade com outros métodos de controle (PANDA & KHUSH, 1995).

De acordo com Nwosu (2016) as causas que governam a resistência de grãos de milho ao ataque de *S. zeamais* ainda não estão totalmente elucidadas. Segundo estes autores, as características físicas, morfológicas (cor, dureza, formato e tamanho) e químicas (ácidos fenólicos e inibidores de proteinases) condicionam a resistência por antixenose. A antixenose ocorre quando um dado genótipo é menos utilizado ou preferido

que outro em igualdade de condições, exercendo um efeito adverso no comportamento do inseto (BASTOS et al., 2015).

Este trabalho objetivou testar diferentes híbridos convencionais e transgênicos (contendo toxinas Bt) de milho quanto à resistência por antixenose à *S. zeamais*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do milho

O milho pertence à família Poaceae, subfamília Panicoidea, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. (BROWN & DARRAH, 1985). A origem desta espécie é atribuída ao México e Guatemala, sendo que sua disseminação seguiu em sentido Norte até o Canadá e para o Sul, atingindo os Andes e outras partes da América do Sul (GUIMARÃES, 2007). Atualmente é considerado o principal cereal cultivado no ocidente, sendo utilizado na alimentação humana e na fabricação de ração animal (FERREIRA, 2008).

Os principais fatores ambientais-chave para a produção do milho são: as exigências ligadas a temperatura (temperatura da emergência à floração compreendida entre 24 e 30°C), precipitação pluviométrica (consumo médio total da planta em torno de 600 mm) e radiação solar (cerca de 90% da matéria seca provém da fixação de CO₂ pela fotossíntese). Quando em níveis adequados, estes fatores permitem a expressão do potencial genético de produtividade das cultivares (CRUZ et al., 2006).

A época de semeadura do milho varia conforme a limitação dos fatores essenciais para seu desenvolvimento em uma região. A coincidência de dias mais longos do ano com a floração e a fase de enchimento de grãos, de tal forma a garantir que nessas fases se tenha altas temperaturas e elevada disponibilidade de radiação solar, pode contribuir para se atingirem maiores rendimentos (MAGALHÃES & DURÃES, 2006).

No Brasil, o milho é cultivado em dois momentos durante o ano agrícola, sendo que a primeira época é denominada de safra de verão e a segunda de outono-inverno. Desta forma, na região Sul, a primeira época ocorre com semeadura entre os meses de agosto e setembro e outubro e novembro para as regiões Centro-Oeste e Sudeste. Para a segunda safra, as principais regiões produtoras são a Centro-Oeste e a Sudeste, nos meses de janeiro a abril (CRUZ et al., 2006).

No panorama mundial, os países maiores produtores de milho são Estados Unidos, China e Brasil. Segundo estimativas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), serão produzidas na safra 2016/2017: 366 milhões de toneladas, 218 milhões de toneladas e 82 milhões de toneladas (FIESP, 2016). No Brasil, projeções da safra

2016/2017 da Conab indicam uma produção de 85 milhões de toneladas em aproximadamente 16 milhões de hectares (BRASIL, 2016a).

2.2 O gorgulho-do-milho, *Sithophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)

O gorgulho do milho, *S. zeamais* é uma praga que provavelmente é originária da Índia, sendo encontrado tanto em regiões de clima temperado quanto em regiões tropicais. O adulto possui aproximadamente 3 mm de comprimento, coloração castanho escura com quatro manchas claras nos élitros; sua cabeça fica projetada para a frente com o rostro curvado, onde estão localizadas as peças bucais. A fêmea possui o rostro mais longo e afilado do que o macho, sendo esta característica distintiva entre os sexos (ROSSETO, 1969). As larvas têm coloração amarelo-clara e a cabeça marrom-escura e as pupas são brancas. O período de oviposição é de 104 dias, com incubação ocorrendo entre 3 e 6 dias. O ciclo total de ovo a adultos é de 34 dias (LORINI et al. 2010).

A praga ataca diretamente os grãos armazenados, fazendo um orifício para se alimentar e ovipositar no interior do grão. Esta injúria destrói o embrião e os demais componentes da semente, comprometendo seu potencial germinativo (SANTOS, 1993). Além disso, estes orifícios servirão como porta de entrada de microrganismos, dentre os quais se destaca o fungo *Aspergillus flavus*, que é produtor da substância aflatoxina que pode causar intoxicação e ser cancerígena, afetando o fígado de mamíferos (BETI; PHILLIPS; SMALLEY, 1995).

Alguns fatores contribuem para que o gorgulho do milho seja tão severo e danoso e, dentre eles, se pode dar destaque a sua capacidade de gerar muitos descendentes em um pequeno período de tempo e ao variado número de hospedeiros, fazendo com que seu controle seja complicado (LORINI et al., 2010).

Devido à severidade de ataque, a principal forma de controle do gorgulho-do-milho consiste na aplicação de inseticidas de forma preventiva ou após a infestação. Os ingredientes ativos registrados no Ministério da Agricultura para o controle desta praga são: bifentrina, fenitrotiona e pirimifós metílico. No tocante ao expurgo dos grãos, os principais produtos comerciais possuem como base o fosfeto de alumínio e magnésio (BRASIL, 2016b).

Além do controle químico desta praga, vem sendo aventada a possibilidade de utilização de controles alternativos na forma de atmosfera modificada com ozônio visando diminuir a concentração de gases como o oxigênio (ROZADO et al., 2008) e no desenvolvimento de variedades resistentes (NWOSU, 2016).

2.3 Resistências de Plantas

Segundo Smith (2005), uma planta resistente a insetos possui atributos, geneticamente herdáveis, que fazem com que uma cultivar ou espécie seja menos danificada, que uma outra planta suscetível. Um dos pioneiros desta ciência, Painter (1951), definiu que esta característica poderia ser explicada por três mecanismos: antibiose, não preferência ou antixenose e tolerância. Atualmente, o termo “mecanismo” foi substituído pelo vocábulo categorias (SMITH, 2005).

Na antixenose, um determinado genótipo é menos preferido que outro em igualdade de condições, sendo que a ação do genótipo resistente promove alterações no comportamento da praga. Estas alterações comportamentais podem estar relacionadas com diferenças na oviposição, alimentação ou abrigo (BASTOS et al., 2015). Na antibiose, por sua vez, a influência dos caracteres químicos, físicos e/ou morfológicos presentes nos genótipos resistentes altera os parâmetros biológicos da praga (PANDA & KHUSH, 1995). Por final, genótipos que exibem resistência do tipo tolerância, conseguem conviver ou sobrepujar o ataque de artrópodes-praga, quando comparados a materiais suscetíveis (SMITH, 2005).

Segundo Nwosu et al. (2015), a resistência de grãos de milho ao ataque de *S. zeamais* é devido às características físicas, químicas e bioquímicas dos genótipos de milho. Assim, as diferenças na coloração, formato, tamanho, dureza, teor de proteínas, açúcares e ácidos fenólicos são as principais causas desta resistência (TONGJURA; AMUGA; MAFUYAI, 2010). Além disto, Garcia-Lara et al. (2004) identificaram elevados teores de ácidos fenólicos na composição de variedades resistentes a *S. zeamais*. Ademais, Nwosu (2016) observou que genótipos de milho resistentes possuíam ainda elevados teores de fibras e inibidores de tripsina, sendo estes fatores responsáveis pela menor oviposição nestes materiais.

2.4 Plantas geneticamente modificadas e o *Sithophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)

O desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas através da transgenia, pode ser utilizado como alternativa para o controle de pragas. Segundo Abouseadaa et al. (2015), este objetivo pode ser alcançado através da incorporação de genes que codifiquem proteínas inibidoras do crescimento de insetos. Alguns exemplos são as quitinases (OSMAN et al., 2005), as proteínas cry (CRICKMORE et al., 1998), as proteínas VIP3A (GULZAR & WRIGHT, 2015) e as avidinas (KRAMER et al., 2000). Abouseadaa et al. (2015) ainda afirmam que se estes genes forem introduzidos no genoma de milho com expressão adequada e estável, o controle das pragas do armazenamento será efetivo por diversas gerações.

No tocante às proteínas cry, existe um grande número de toxinas já identificadas com ação sobre vários grupos de insetos, incluindo lepidópteros, coleópteros, dípteros e himenópteros. Muito embora boa parte dessas proteínas tenha sido extensivamente testada em pragas de grãos armazenados, raros são os casos de níveis de controle adequado de *S. zeamais* (YILMAZ et al., 2012).

Segundo Kramer et al. (2000), Yoza et al. (2005) e Abouseadaa et al. (2015) plantas geneticamente modificadas contendo a proteína avidina se constituem na principal alternativa biotecnológica para o controle de coleópteros praga de grãos armazenados. Esta proteína pertence ao grupo das glicoproteínas advindas da galinha (*Gallus gallus* L.) e em conjunto com a estreptoavidina promove a deficiência de biotina em uma série de insetos, sendo que a sua ausência acarreta atrofia corporal generalizada, além de altos níveis de mortalidade. Dentro deste contexto, Kramer et al. (2000) realizaram a transformação de milho contendo esta proteína e posteriormente Abouseadaa et al. (2015) reportaram o desenvolvimento de trigo transgênico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade de Brasília (UnB), no Laboratório de Proteção de Plantas da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB), entre abril e julho de 2016.

Os genótipos de milho empregados no ensaio encontram-se listados na Tabela 1. Os genótipos foram obtidos da empresa Du Pont Pioneer Seeds e não continham adição de nenhum produto químico.

Os insetos usados nos ensaios foram provenientes de criação massal mantida no Laboratório de Proteção de Plantas da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB) sob milho doce, variedade Doce Cristal da Embrapa sendo mantidos no interior de recipientes de vidro de 5 L de capacidade vedados com tampa rosca e recobertos com organza. Os primeiros adultos da criação foram obtidos junto à Universidade Federal de Viçosa (UFV) sendo identificados como *S. zeamais*.

Foram realizados três bioensaios, onde cada tratamento foi representado pelos 10 genótipos de milho testados, sendo dispostos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em arenas circulares. Em todos os ensaios foram empregadas amostras de 10 g de grãos de cada genótipo que foram inseridas no interior dos saquinhos de organza fixados com auxílio de elásticos em tubos tipo Falcon de 10 mL de capacidade em que o fundo foi, previamente à instalação na arena, removido. Os tubos Falcon, por sua vez, foram fixados em recipientes plásticos redondos e transparentes de 750 mL de capacidade, vedados com tampas também transparente. Esse conjunto compunha as arenas e receberam os genótipos empregados nos bioensaios distribuídos ao acaso. Cada arena recebeu 50 adultos de *S. zeamais* não sexados e com até dez dias de idade. Foram realizadas avaliações decorridas 12, 24 e 48 horas após o início do ensaio. Em cada avaliação, contabilizou-se o número de insetos no interior de cada saquinho de organza, correspondendo a cada genótipo.

Os dados provenientes das avaliações dos três bioensaios foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para verificar se havia diferenças significativas entre os bioensaios e, caso houvesse, eles seriam analisados separadamente. Como não foram verificadas diferenças significativas entre os diferentes bioensaios para um mesmo momento de avaliação (12, 24 ou 48 h após o início do ensaio), realizou-se a soma do número de insetos presente em cada parcela experimental nos três bioensaios. Em seguida,

os dados foram submetidos à ANOVA por medidas repetidas repetidas e, quando o teste de F mostrou-se significativo, seguida de teste Tukey a $p \leq 0,05$ utilizando-se o SAS system (SAS, 2002). Além disso, foi obtida a média das três avaliações e os tratamentos foram comparados por ANOVA, seguida de teste Tukey a $p \leq 0,05$ empregando o SAS system (SAS, 2002).

Tabela 1. Genótipos empregados no teste de antibiose de milho ao ataque de *S. zeamais*.

Híbrido	Proteína	Tipo de híbrido
BG7037YH	Cry1Ab x Cry1F/PAT	Simple
BG7330H	Cry1F/PAT	Simple
BG7432H	Cry1F/PAT	Simple
BG7439H	Cry1F/PAT	Simple
BG7542H	Cry1F/PAT	Simple
P2866H	Cry1F/PAT	Simple
P3161	Sem	Simple
P3250	Sem	Triplo
P3630H	Cry1F/PAT	Simple
P3779H	Cry1F/PAT	Simple

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram verificadas diferenças significativas entre os três bioensaios nas avaliações de 12 h ($F_{2,90} = 0,12$; $p = 0,8833$), 24 h ($F_{2,90} = 0,16$; $p = 0,8502$) e 48 h ($F_{2,90} = 0,25$; $p = 0,7760$), permitindo assim a análise coletiva de todos os bioensaios. Ademais, verificou-se interação significativa entre o momento de avaliação e os genótipos testados de acordo com a ANOVA por medidas repetidas ($F_{18,60} = 20,67$; $p < 0,0001$).

Na avaliação de 12 horas, os genótipos foram divididos em duas classes de acordo com a densidade de adultos de *S. zeamais*. Os genótipos mais preferidos por este inseto foram BG7432H, BG7330H, P3250, P3779H e BG7439H. Os demais genótipos avaliados neste bioensaio foram classificados como menos preferidos (Figura 1). A principal hipótese explicativa deste fato consiste na localização de hospedeiros adequados para alimentação e oviposição mediada por teores diferenciais e relacionados aos voláteis emitidos pelos grãos de milho (UKEH et al., 2010). A preferência por determinados genótipos nessa fase de avaliação, pode estar ligada ao balanço de voláteis emitidos por cada um desses genótipos (GERMINARA et al., 2008), determinando a quantidade de adultos de *S. zeamais* associada a cada um dos genótipos avaliados.

Na avaliação intermediária, de 24 horas, os genótipos de milho avaliados neste estudo foram categorizados em três estratos de acordo com a densidade de adultos de *S. zeamais*. Os genótipos BG7439H e P3250 foram os mais preferidos, sendo o oposto encontrado em BG7542H e P2866H. Os demais genótipos pertencem a classe intermediária de preferência (Figura 2). Por final, na avaliação após 48 horas, foram observados dois grupos de genótipos de milho, nos quais P3630H foi o mais preferido por *S. zeamais* sendo o restante dos genótipos avaliados agrupados como menos preferidos (Figura 3). As principais causas da preferência diferencial de *S. zeamais* aos genótipos de milho avaliados após 24 e 48 horas não estão fortemente ligadas aos fatores de localização conforme relacionado. Assim, as características físicas, morfológicas e químicas do grão possuem maior influência nesta relação (NWOSU et al., 2015).

Com relação às características físicas e morfológicas dos grãos de milho menos atacados por *S. zeamais*, Soujanya et al. (2016) observaram que grãos de coloração mais clara e opaca foram menos preferidos por *S. zeamais*. Além da cor, outros caracteres físicos e morfológicos dos grãos, tais como o tamanho e o formato (ARNASON et al., 2004), além da dureza do endosperma (GARCIA-LARA et al., 2004) afetam a preferência

de ataque de *S. zeamais*. Com referência às características químicas dos grãos de milho, Nwosu (2016) observaram que adultos de *S. zeamais* mostraram menor preferência por oviposição na linhagem 2000SYNEE-WSTR, sendo este caráter negativamente correlacionado com os teores de fósforo, magnésio e manganês nos grãos. Por outro lado, estes autores concluíram que a maior preferência por oviposição de *S. zeamais* na variedade PVASYN possuía correlação positiva com os teores intrínsecos de amido e proteínas, cálcio, cobalto, ferro sódio, além dos elementos citados anteriormente. Além desses fatores, Nwosu et al. (2015) observaram que altos teores de ácidos fenólicos e fibras atuaram no condicionamento da resistência por antixenose em linhagens elite de milho. Para o caso particular deste estudo, as diferenças observadas nas densidades de adultos de *S. zeamais* em genótipos de milho, não foram justificadas pela presença de diferentes toxinas Bt uma vez que foram encontrados materiais suscetíveis e resistentes por antixenose que continham o mesmo evento. Constatações similares foram encontradas por Oppert; Ellis; Babcock (2010) e Hansen; Lövei; Székács (2012).

Em contraposição às análises individuais dos bioensaios, observou-se efeito significativo dos genótipos sobre a preferência de *S. zeamais* quando a análise foi feita considerando a densidade média do inseto nos três tempos de avaliação (12, 24 e 48 horas) ($F_{9,30} = 8,94$; $p < 0,0001$). Assim, os dez genótipos de milho avaliados foram distribuídos em três classes discretas, isto é, um agrupamento mais preferido por *S. zeamais* contendo dois representantes (P3630H e BG7439H), outro grupo intermediário contendo quatro genótipos e um menos preferido com quatro integrantes (BG7542H, P2866H, BG7037YH e P3161) (Figura 4).

Quando se considerou o desempenho individual (Figuras 1 a 3) e a média dos três tempos de avaliação (Figura 4), observou-se que o genótipo BG7439H apresentou a maior atratividade a *S. zeamais*, sendo o oposto notado nos genótipos BG7542H e BG7037YH. Fato interessante ocorreu com a mudança de *status* do material P3630H, onde na avaliação de 12 horas pertenceu ao grupo dos menos preferidos, na avaliação de 24 horas foi classificado como intermediário e nas avaliações de 48 horas e média integrou o grupo dos mais preferidos. Estes resultados remetem a duas questões intrínsecas ao estudo da resistência de plantas a artrópodes. A primeira consiste na presença de diversas causas da resistência por antixenose de genótipos de milho ao ataque de *S. zeamais*, sendo que essas afetam a localização do hospedeiro (UKEH et al., 2010) e o estabelecimento do inseto (MWOLOLO et al., 2012). A segunda questão, de ordem metodológica, consiste no

correto tempo de avaliação dos bioensaios, evitando assim, o escrutínio de germoplasma suscetível ao invés de resistente (SMITH, 2005).

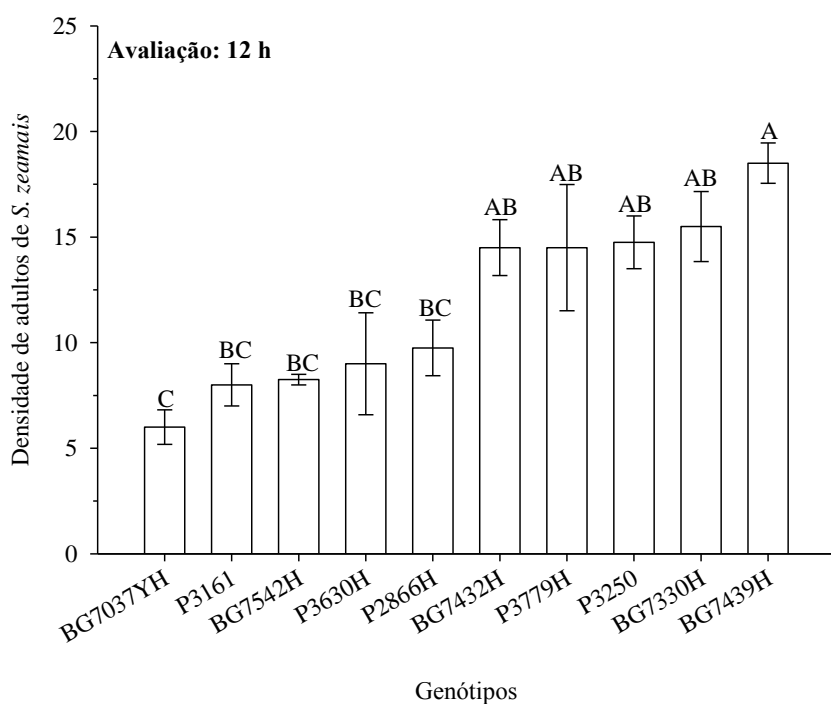


Figura 1. Soma do número de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) ± erro padrão da média (EPM) em três diferentes bioensaios, na avaliação realizada 12 h após o início dos bioensaios. Ta.: 25,5°C ± 0,90, UR: 53% ± 16,5. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a $p \leq 0,05$.

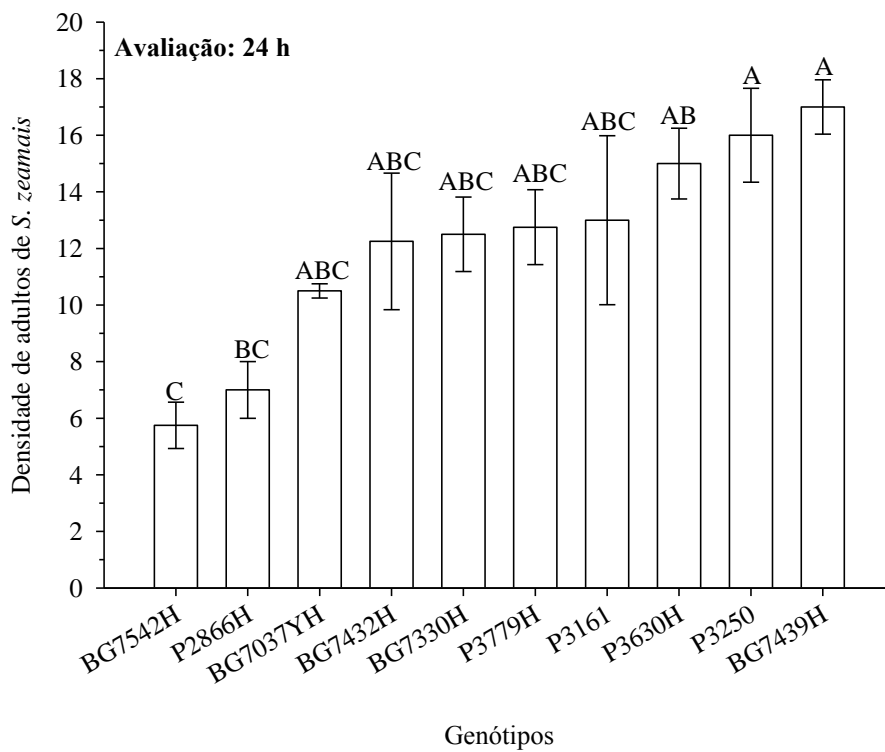


Figura 2. Soma do número de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) \pm erro padrão da média (EPM) em três diferentes bioensaios, na avaliação realizada 24 h após o início dos bioensaios. Ta.: $28,7^{\circ}\text{C} \pm 0,60$, UR: $48\% \pm 17,0$. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a $p \leq 0,05$.

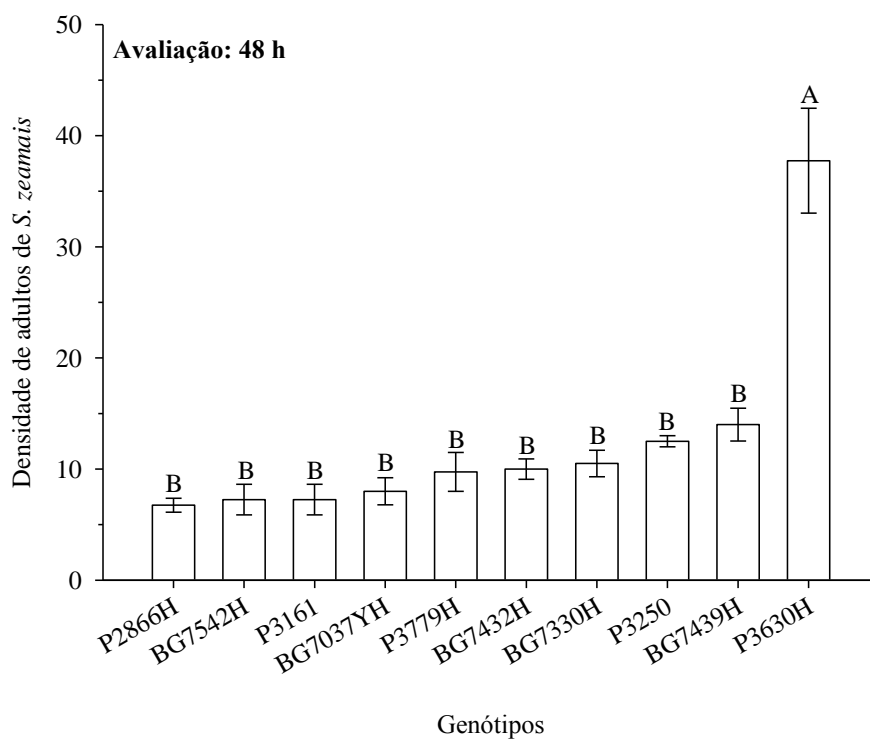


Figura 3. Soma do número de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) \pm erro padrão da média (EPM) em três diferentes bioensaios, na avaliação realizada 48 h após o início dos bioensaios. Ta.: $27,4^{\circ}\text{C} \pm 0,60$, UR: $49\% \pm 17,5$. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a $p \leq 0,05$.

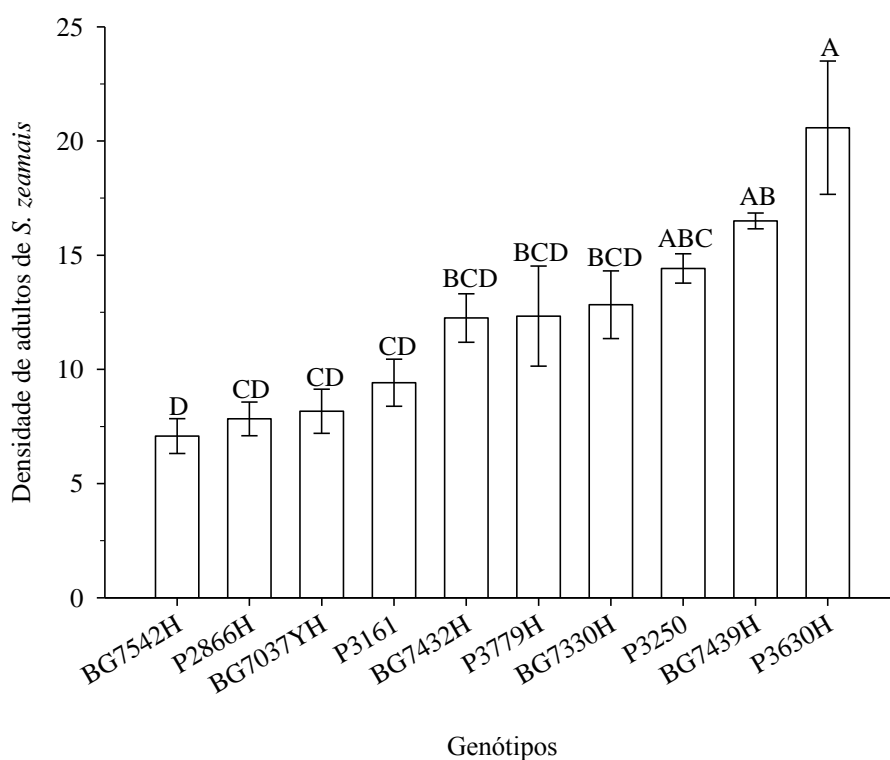


Figura 4. Média do número de adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) nas três avaliações (12, 24 e 48 h) realizadas após o início dos bioensaios. Ta.: $27,2^{\circ}\text{C} \pm 0,60$, UR: $50\% \pm 8,5$. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre pelo teste Tukey a $p \leq 0,05$.

5. CONCLUSÕES

- Os genótipos de milho mostram reação diferenciada ao ataque de *S. zeamais*;
- O genótipo BG7439H mostra maior suscetibilidade ao ataque de *S. zeamais*;
- Os genótipos BG7542H e BG7037YH mostram-se resistentes por antixenose ao ataque de *S. zeamais*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUSEADAA, H. H. et al. Development of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing avidin gene conferring resistance to stored product insects. **BMC Plant Biology**, 15: 183, 2015.

ARNASON, J. T. et al. Is quality protein maize more susceptible than normal varieties to attack by the maize weevil, *Sitophilus zeamais*? **Postharvest Biology and Technology**, 2: 349-358, 1993.

BASTOS, C.S. et al. Resistência de plantas a insetos: contextualização e inserção no MIP. In: VISOTTO, L.E.; FERNADES, F.L.; CARVALHO FILHO, A.; LOPES, E.A.; AQUINO, L.A. de.; GOD, P.I.V.G.; RUAS, R.A.A.; SOUSA JUNIOR, J.M. de. (Eds). **Avanços tecnológicos aplicados à pesquisa na produção vegetal**. Viçosa: UFV, 2015. p.32-72.

BETI, J. A.; PHILLIPS, T. W.; SMALLEY, E. B. Effects of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on production of aflatoxin B sub (1) by *Aspergillus flavus* in stored corn. **Journal of Economic Entomology**, 88: 1776-1782, 1995.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Observatório agrícola: acompanhamento da safra brasileira – grãos**. Vol. 3 – safra 2015/16. No. 9. Junho de 2016. Brasília: Conab, 2016a. 174p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Agrofit**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 29 de novembro de 2016b.

BROWN, W.L.; DARRAH, L.L. **Origin, adaptation, and types of corn**. NCH-10. Ames: Iowa State University, 1985. 6p.

CRICKMORE, V. et al. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. **Molecular Biology Review**, 62: 807-813, 1998.

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: CRUZ, J.C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHAES, P. C. (Ed.). **A Cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. cap.12, p.303-362.

CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; GONTIJO NETO, M.M.; VIANA, J.H.M.; OLIVEIRA, M.F. de; SANTANA, D.P. **Manejo da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 12p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 87).

FERREIRA, A. Desempenho de híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas de milho em top crosses, em três locais do estado de são paulo. Campinas, 2008, 88p. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto Agrônômico de Campinas.

FIESP. Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (FIESP). **Safra Mundial de Milho 2016/17-2 levantamento do USDA**. Disponível em: http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicações/safra-mundial-de-milho-2/attachment/boletim_milho_junho2016/. Acesso em: 29 de Novembro de 2016.

GARCIA-LARA, S. et al. The role of pericarp cell wall components in maize weevil resistance. **Crop Science**, 44: 1546-1552, 2004.

GERMINARA, G.S.; DE CRISTOFARO, A.; ROTUNDO, G. Behavioral responses of adult *Sitophilus granarius* to individual cereal volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, 34: 523–529, 2008.

GUIMARÃES, P. S. Desempenho de Híbridos Simples de Milho (*Zea mays* L.) e Correlação entre Heterose e Divergência Genética entre as Linhagens Parentais. Campinas, 2007, 132p. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto Agrônômico de Campinas.

GULZAR, A.; WRIGHT, D.J. Sub-lethal effects of Vip3A toxin on survival, development and fecundity of *Heliothis virescens* and *Plutella xylostella*. **Ecotoxicology**, 24: 1815–1822, 2015.

HANSEN, L.S.; LÖVEI, G.L.; SZÉKÁCS, A. Survival and development of a stored-product pest, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), and its natural enemy, the parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae), on transgenic Bt maize. **Pest Management Science**, 69: 602-606, 2012.

KRAMER, K.J. et al. Transgenic avidin maize is resistant to storage insect pests. **Nature Biotechnology**, 18:670–674, 2000.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B. de.; HENNING, A. A. **Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento – série sementes**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 12p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 73).

MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 76).

MWOLOLO, J.K.; MUGO, S.; OKORI, P.; TEFERA, T.; OTIM, M.; MUNYIRI, S.W. Sources of resistance to the maize weevil *Sitophilus zeamais* in tropical maize. *Journal of Agricultural Science*, 4: 206-215, 2012.

NWOSU, L.C. Chemical bases for maize grain resistance to infestation and damage by the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Journal of Stored Products Research**, 69: 41-50, 2016.

NWOSU, L.C.; ADEDIRE, C.O.; OGUNWOLU, E.O. Screening for new sources of resistance to *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) infestation in stored maize genotypes. **Journal of Crop Protection**, 4: 277-290, 2015.

OPPERT, B.; ELLIS, R.T.; BABCOCK, J. Effects of Cry1F and Cry34Ab1/35Ab1 on storage pests. **Journal of Stored Products Research**, 46: 143-148, 2010.

OSMAN, G; MUTHUKRISHNAN, K. Cloning and sequencing analysis of a chitinase gene from cotton leaf worm (*Spodoptera littoralis*) Noctuidae- Lepidoptera. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, 34: 1–13, 2005.

PACHECO, I.A.; PAULA, D.C. de. **Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia**. Campinas:Fundação Cargil, 1995. 229p.

- PAINTER, R.H. **Insect resistance in crop plants**. New York: MacMillan, 1951. 520p.
- PANDA, N.; KHUSH, G.S. **Host plant resistance to insects**. Wallingford: CAB, 1995. 448p.
- PEDIGO, L.P. **Entomology and pest management**.4.ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2002. 742p.
- ROSSETO, C.J. O complexo de *Sitophilus* spp (Coleoptera: Curculionidae) no estado de São Paulo. **Bragantia**, 28: 127-148, 1969.
- ROZADO, A.F.; FARONI, L.R.D.; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C.; PAES, J.L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 12: 282-285, 2008.
- SANTOS. J.P. Recomendações para o controle de pragas de grãos e de sementes armazenadas. In: BULL, L.T.; CANTARELLA, H. (Eds.). **Cultura do milho**: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p.197-248.
- SAS. **The SAS system**.Version 9.00. Cary: SAS Institute, 2002.
- SMITH, C.M. **Plant resistance to arthropods**: molecular and conventional approaches. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2005. 423p.
- SOUJANYA, P.L. et al. Evaluation of biophysical, anatomical and biochemical traits of resistance to *Sitophilus oryzae* L (Coleoptera: Curculionidae) in stored maize. **Maydica**, 61: 2-8, 2016.
- TONGJURA, J. D. C.; AMUGA, G. A.; MAFUYAI, H. B. Laboratory assessment of the susceptibility of some varieties of *Zea mays* infested with *Sitophilus zeamais*, Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) in Jos, Plateau State, Nigeria. **Science World Journal**, 5: 55-57, 2010.

UKEH, D.A.; BIRKETT, M.A.; BRUCE, T.; ALLAN, E.J.; PICKETT, J.A.; MORDUE, A.J. Behavioural responses of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles. **Pest Management Science**, 66: 44–50, 2010

YILMAZ, S. et al. A novel *Bacillus thuringiensis* strain and its pathogenicity against three important pest insects. **Journal of Stored Products Research**, 51: 33-40, 2012.

YOZA, K. et al. Avidin expressed in transgenic rice confers resistance to the stored-product insect pests *Tribolium confusum* and *Sitotroga cerealella*. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 69: 966–971, 2005.