

DANOS CAUSADOS POR PRAGAS NA ESTRUTURA, MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO BT PARA SILAGEM¹

GERALDO BALIEIRO NETO², TEREZINHA MONTEIRO DOS SANTOS CIVIDANES², ROBERTO BOTELHO FERRAZ BRANCO², MAURO SARTORI BUENO³, ROSANA POSSENTI³, JOSÉ RAMOS NOGUEIRA²

¹Recebido para publicação em 19/02/13. Aceito para publicação em 20/09/13.

²Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Leste, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA), Av. Bandeirantes, 2419, CEP 14030-670, Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: geraldobalheiro@apta.sp.gov.br

³Instituto de Zootecnia (IZ), APTA, SAA, Rua Heitor Penteado, 56, Centro, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil.

RESUMO: Objetivou-se avaliar o efeito de danos ocasionados por pragas nas características morfológicas e estruturais e composição química das partes da planta dos híbridos de milho DKB390 e AG8088 contendo o gene *Cry1Ab* e de suas contrapartes convencionais. Os híbridos de milho DKB390 e AG8088 contendo o gene *Cry1Ab* não receberam aplicação de inseticida e os híbridos convencionais receberam uma aplicação de deltametrina (2,8%) aos 42 dias após a semeadura. As plantas convencionais tiveram maiores danos pelo ataque das pragas *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea*. Após o corte, 95 dias após o plantio, a planta foi separada em colmo, espiga, folha, material morto e pendão. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em arranjo fatorial 2 x 2. Os híbridos contendo o gene *cry1Ab* tiveram maior quantidade e percentual de material morto, altura da planta e altura da espiga quando comparados aos seus isogênicos. Houve maior transferência de nutrientes do colmo para o enchimento dos grãos e menor relação espiga:colmo na planta transgênica. As plantas transgênicas podem favorecer o conteúdo de nutrientes digestíveis, devido ao aumento no teor de carboidratos não fibrosos, quando colhidas mais cedo, ou desfavorecer o conteúdo de nutrientes digestíveis, em virtude da maior proporção de colmo e maiores teores de lignina no colmo, quando colhidas mais tarde.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga, DNA recombinante, massa de forragem, *Zea mays*.

INSECT DAMAGES ON STRUCTURAL, MORPHOLOGIC AND COMPOSITION OF BT MAIZE HYBRIDS FOR SILAGE

ABSTRACT: It was aimed to evaluate the effect of insect damage on the morphologic and structural characteristics and chemical composition from maize hybrids DKB 390 and AG 8088 with the *Cry1Ab* trait versus its nonbiotech counterpart. The GMO did not receive insecticide application and the conventional hybrids received one deltametrina (2.8%) application at 42 days. The damages caused by *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* in hybrids with *Cry1Ab* were smaller than its nonbiotech counterpart. After harvest, 95 days after seedling plants were separated in stalks, ears, leaves, dead leaves and floral pennant. The experimental design was randomized block in factorial arrangement 2 x 2. The height of plant and height of ear, percentage and amount of dead leaves from hybrids with the *Cry1Ab* were higher than its nonbiotech counterpart. There was higher nutrients transfer from stalks to grain filling and smaller rate stalks:ear on transgenic plant. The quality of the transgenic plants can be better when harvest earlier, by increasing no fiber carbohydrates, but when harvest latter, by increasing stalk percentage and stalk lignin content.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, armyworm, earworm, recombinant DNA, forage mass, *Zea mays*.

INTRODUÇÃO

A finalidade da implantação do gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) em híbridos de milho foi torná-los resistentes ao ataque de pragas, reduzindo os custos com a aplicação de defensivos, passagem de máquinas na lavoura e impactos negativos na produção de grãos.

A criação de híbridos resistentes ao ataque de pragas tornou possível estudar o efeito dos danos ocasionados pelas pragas sobre as características morfológicas e estruturais da planta e composição química das partes da planta no momento do corte para ensilagem. O estudo é pertinente uma vez que a implantação do gene Bt pode evitar a manifestação de mecanismos de defesa da planta contra a predação que podem alterar a composição química das partes da planta.

A deposição de lignina na parede celular dificulta a entrada do agressor e limita as trocas entre este e a planta, aumentando a resistência da parede celular contra as enzimas digestivas dos agressores. Por outro lado, o aumento no teor de lignina, após o ataque de pragas, pode reduzir a ação de enzimas digestivas das bactérias ruminais dos bovinos alimentados com a forragem (VAN SOEST, 1978).

Os mecanismos de defesa incluem a destruição de compartimentos, espessamento das paredes celulares e da cutícula (fina camada sobre a epiderme do caule e das folhas), síntese de toxinas (fitoalexinas) e proteínas (pathogenesis related), (RYALS *et al.*, 1994). A expressão coordenada de uma classe de genes que codificam proteínas de defesa resulta em espessamento da parede celular em plantas atacadas por pragas através da produção das enzimas peroxidase e catalase que aceleram a oxidação de substâncias (do grupo dos fenóis) precursoras na síntese da lignina (STASKAWICZ *et al.*, 1995). Em células tratadas com indutores de defesa há rápido acúmulo de orto-metiltransferases e cinamil-álcool-desidrogenase, enzimas estas ligadas à síntese de ligninas (RYALS *et al.*, 1994).

Os mecanismos de defesa são ativados pela atuação de um agente agressor, sendo os indutores de resposta endógenos (fragmentos da própria planta, substâncias derivadas de componentes estruturais da planta liberadas pelo ataque de enzimas) ou exógenos (fragmentos do agente agressor) (MARGIS-PINHEIRO *et al.*, 1993). Embora as pragas tenham que ingerir tecidos

da planta para que a proteína *Cry1Ab* possa intoxicá-las, talvez a intensidade deste ataque não seja suficiente para desencadear mecanismos de defesa da planta.

Além da deposição de lignina, ferimentos na planta levam à produção de outros componentes da parede celular vegetal, como proteínas ricas nos aminoácidos hidroxiprolina (HRGP) e glicina (GRP). As proteínas HRGP acumulam-se alterando a estrutura das paredes celulares para criar uma barreira estrutural, de forma direta ou preparando locais para o depósito de lignina (MARGIS-PINHEIRO *et al.*, 1993).

As reações de defesa desencadeadas pela agressão de pragas em plantas sem o gene Bt também podem prejudicar a produção e qualidade da forragem devido ao consumo de carboidratos solúveis do colmo como fonte de energia, reduzindo a disponibilidade dos mesmos para o enchimento dos grãos.

Não existem evidências científicas que comprovem alteração da composição química da forragem em virtude de mecanismos de defesa natural da planta ou da resistência dos transgênicos contra pragas. Porém, as mudanças metabólicas envolvidas nas respostas induzidas pela predação podem alterar a qualidade e quantidade da forragem, enquanto a planta geneticamente modificada, ao resistir ao ataque de pragas, pode evitar as alterações oriundas da defesa natural e suas consequências na produção e qualidade da forragem.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto de dano causado por pragas nas características estruturais e morfológicas, massa de forragem e composições químicas das diferentes partes da planta dos híbridos de milho DKB390 da Dekalb e AG8088 da Agrocereos contendo o gene *Cry1Ab* e de suas contrapartes convencionais sem o gene Bt (isogênicos próximos).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Leste da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, localizado no município de Ribeirão Preto. A altitude média de Ribeirão Preto é 646 m e a precipitação média anual é de 1427 mm, com temperatura média máxima de 25°C e mé-

dia mínima de 19,3°C, sendo o verão predominantemente quente e úmido e o inverno frio e seco. A precipitação e chuvas acumuladas nos períodos em que os híbridos foram cultivados encontram-se na Figura 1 e referem-se ao primeiro e segundo ano da pesquisa, respectivamente. O solo é classificado como Latossolo Vermelho distroférrico que consiste 10,2% de areia, silte 32,1 e 57,7% de argila, apresentando a seguinte fertilidade química: pH = 5,5, MO = 23 g/dm³, P = 43 mg/dm³, K = 3,8 mmolc/dm³, Ca = 26 mmolc/dm³, Mg = 11 mmolc/dm³, CEC = 70 mmolc/dm³, V% = 58%, SB = 41 mmolc/dm³, H + Al = 29 mmolc/dm³, B = 0,27 mg/dm³, Cu = 6,7 mg/dm³, Mn = 34,8 mg/dm³, Zn = 1,0 mg/dm³.

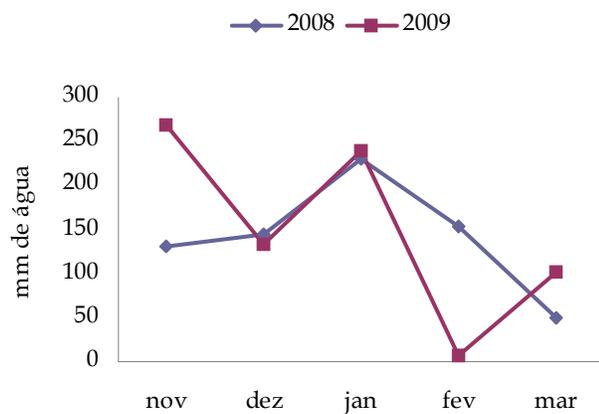


Figura 1. Precipitação mensal na região de Ribeirão Preto no período de novembro de 2008 até março de 2009 (primeiro ano) e no período de novembro de 2009 até março de 2010 (segundo ano).

A infestação e danos por pragas foram ocorrências naturais do cultivo no campo e a diferenciação entre os danos por pragas nos híbridos foi obtida utilizando as sementes dos híbridos de milho DKB 390 e AG 8088 contendo o gene *Cry1Ab*, que providencia resistência a *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea*, e seus isogênicos próximos sem o gene *Cry1Ab*. Antes da semeadura as sementes foram tratadas com fungicidas e inseticidas, e posteriormente, foram cultivadas por dois anos consecutivos, safras de 2009 e 2010. A germinação e o vigor das sementes não foram testadas e, portanto, são fatores que podem integrar as causas das diferenças observadas na população de plantas. Os plantios foram realizados por semeadora mecânica regulada para depositar seis sementes por metro linear e com espaçamento de 0,90 m entre as fileiras. A adubação de plantio foi realizada com 250 kg/ha da fórmula 8-28-16 e a de cobertura

com 300 kg/ha da formulação 20-2-20. Foi realizada uma única aplicação de deltametrina a 2,8%, aos 42 dias após o plantio, nas lavouras convencionais e não houve aplicação de inseticida nas lavouras transgênicas. As parcelas experimentais foram constituídas de oito fileiras de 12 m, eliminando-se um metro em cada extremidade.

Foram realizadas avaliações da infestação e dos danos associados à presença da lagarta-do-cartucho nos dias 26 de novembro, três, 10, 17 e 23 de dezembro de 2009, correspondendo a 15, 22, 29, 36 e 42 dias após a instalação do ensaio e aos estádios fenológicos entre V3 e V8. A lavoura foi submetida a cinco avaliações de infestação pela lagarta-do-cartucho e quatro avaliações de infestação pela lagarta-da-espiga, ambas em intervalos de 15 dias e em 25 plantas por tratamento. Foi utilizada uma escala com notas de 0 a 5 para avaliação de danos, de acordo com CARVALHO (1970), para avaliação da lagarta-do-cartucho, em que: 0 - plantas sem folhas danificadas; 1 - plantas com raspadura nas folhas; 2 - plantas apresentando furos nas folhas; 3 - plantas apresentando dano nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4 - plantas apresentando cartucho destruído; 5 - plantas mortas. Para avaliação da lagarta-da-espiga foi utilizada a escala proposta por WIDSTROM (1967), com notas de 0 a 4, em que: 0 - não existe inseto na espiga; 1 - o inseto penetrou na espiga comendo o estilo-estigma sem atingir a ponta do sabugo; 2 - o inseto penetrou até o sabugo, não se aprofundando mais que 1 cm; 3 - o inseto penetrou até o sabugo, não se aprofundando mais que 2 cm; 4 - o inseto penetrou até o sabugo, não se aprofundando mais que 3 cm. As notas de danos causados por pragas encontram-se na Tabela 1.

O corte foi realizado manualmente no momento em que as forrageiras atingiram o estágio dos grãos de pastoso a farináceo, aos 95 dias após o plantio, sendo amostradas 25 plantas em pontos diferentes por parcela, desprezando as duas primeiras linhas laterais (bordadura). No momento do corte foram realizadas avaliações do número de plantas e altura da planta e da espiga. A produção de massa foi obtida através da contagem de plantas em 10 metros lineares realizada por cinco vezes na parcela e posteriormente multiplicada pelo peso das plantas. As plantas foram pesadas e separadas em colmo, espiga e folhas. Após a pesagem da planta inteira e de suas partes, todas as amostras foram trituradas por picadeira regulada para corte da forragem em partículas de 1 cm de comprimento, novamente pesadas e encaminhadas para a estufa com circulação forçada de ar a 65°C por 72 h, para obtenção do teor de matéria seca.

Tabela 1. Danos causados pela Lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e pela Lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*), em duas variedades de milho (DBK e AG), convencionais e geneticamente modificadas com o gene de *Baccillus thuringiensis*

	Convencional				OGM				Convencional		OGM	
	DKB		AG		DKB		AG		Mean	SE	Mean	SE
Lagarta	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Cartucho	2,46a	±0,07	2,53a	±0,08	1,60a	±0,07	1,47a	±0,06	2,50a	±0,05	1,54b	±0,04
Espiga	1,79a	±0,09	1,36b	±0,09	0,72a	±0,08	0,94a	±0,08	1,58a*	±0,07	0,83b*	±0,06

Médias com letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,005$ e $*p < 0,0001$) de acordo com o teste de Kurskal-Wallis.

Após a secagem, as amostras foram moídas e analisadas para determinação dos teores de proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), cálcio, fósforo, potássio e matéria mineral (MM), segundo AOAC (1980), componentes da parede celular (FDN, FDA e lignina, segundo VAN SOEST, 1967), carboidratos solúveis (JOHNSON *et al.*, 1966), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (VAN SOEST e ROBERTSON, 1985) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (VAN SOEST *et al.*, 1991). Para análise de FDN foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada a α -amilase. Os carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos totais (CHOT) foram obtidos pelas fórmulas: $CNF = 100 - (FDN + PB + EE + MM)$ e $CHOT = 100 - (PB + EE + MM)$. As análises de digestibilidade in vitro da matéria seca foram realizadas de acordo com TILLEY e TERRY (1963).

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso em arranjo fatorial 2×2 , com cinco repetições. Os dados dos dois anos foram analisados de forma conjunta e o efeito do ano incluído no modelo estatístico. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo PROC GLM (SAS Inst. Inc., Cary, NC) e ao teste Tukey para a comparação das médias ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação das condições climáticas entre os anos de estudo associada às características dos híbridos como a velocidade de crescimento, ciclo vegetativo, exigência em nutrientes, resistência ao déficit hídrico, germinação e vigor das sementes e ao ataque por pragas (principalmente *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea*), promoveram interação significativa entre OGM e híbridos em relação ao número de plantas por hectare (Tabela 2).

A interação significativa ocorreu porque no primeiro ano do experimento houve pior distribuição das chuvas, não havendo diferença entre híbridos convencionais e transgênicos em relação ao número de plantas por hectare, enquanto no segundo ano, o nú-

mero de plantas por hectare nas lavouras transgênicas foi superior ao número de plantas das lavouras convencionais. A germinação e vigor das sementes também podem ter contribuído ao maior número de plantas nas lavouras transgênicas.

Houve interação significativa entre OGM e ano, em relação ao número de plantas por hectare, de forma que a análise estatística do primeiro ano não detectou diferença significativa no número de plantas e produção de massa dos híbridos transgênicos e de suas respectivas contrapartes convencionais. Contudo, não houve interação significativa entre OGM e ano de avaliação, em relação à produção de massa, sendo apresentada à análise conjunta dos dois anos de experimento, a qual constatou maiores produções de massa das lavouras transgênicas (Tabela 2). Os menores danos por pragas e maior população de plantas certamente contribuíram para o efeito de maior produção de massa das lavouras transgênicas.

A altura da planta e da espiga foi superior nos híbridos contendo o gene *Cry1Ab* quando comparados com suas respectivas contrapartes convencionais sem o gene *Cry1Ab* (Tabela 2). Os híbridos contendo o gene *Cry1Ab* tiveram maior quantidade e percentual de material morto quando comparados as suas respectivas contrapartes convencionais sem o gene *Cry1Ab* (Tabela 2).

As diferenciações na altura da espiga e planta indicam o alongamento do colmo, resultando em maior produção de colmo dos híbridos transgênicos (Tabela 2). Embora a produção de espiga dos híbridos modificados tenha maiores valores, a diferença entre os valores da produção de espiga não foi significativa, ou seja, houve maior produção de colmo com a mesma produção de espiga. Sendo o aumento da produção do colmo proporcionalmente maior que o aumento não significativo da produção de espigas, ocorreu menor relação espiga:colmo nos híbridos transgênicos, quando comparado com suas contrapartes convencionais sem o gene *Cry1Ab* (Tabela 2).

Tabela 2. Características morfológicas, estruturais e produtivas dos híbridos de milho DKB390 e AG8088 contendo o gene *Cry1Ab*(OGM) versus suas contrapartes convencionais sem o gene *Cry1Ab*, primeiro e segundo ano (análise conjunta 2009 e 2010)

	Efeito Principal			Probabilidade		
	Convencional	OGM	CV	OGM	OGM x Híbrido	OGM x Ano
N de Plantas/ha	57110	63888	6,65	***	NS	***
Planta (t MS/ha)	14,012	15,766	11,39	**	NS	NS
Colmo (t MS/ha)	3,913	4,643	14,11	***	NS	-
Espiga (t MS/ha)	6,540	7,238	16,39	NS	NS	NS
Folha (t MS/ha)	2,183	2,381	20,38	NS	NS	NS
Morto (t MS/ha)	0,226	0,355	43,02	**	NS	NS
Pendão(t MS/ha)	0,194	0,242	19,60	**	NS	NS
% Colmo	29,93	30,86	4,81	--	NS	NS
% Espiga	50,17	48,85	9,83	NS	NS	NS
% Folha	16,75	16,21	19,07	NS	NS	NS
% MM	1,47	2,22	37,68	**	NS	NS
% Pendão	1,44	1,64	18,95	*	NS	NS
Teor MS Colmo	21,34	22,09	6,28	--	NS	NS
Teor MS Espiga	38,30	39,19	4,77	NS	NS	NS
Teor MS Folha	26,10	26,56	6,74	NS	*	NS
Teor MS MM	69,99	74,16	15,13	NS	NS	NS
Teor MS Pendão	51,03	53,60	12,48	NS	NS	NS
Altura Planta (m)	1,93	2,07	3,83	***	NS	NS
Altura Espiga (m)	1,02	1,20	18,17	*	NS	NS
espiga/colmo	1,72	1,57	7,81	***	NS	NS

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5%;

Probabilidade = NS = $p > 0,07$; -- = $p < 0,07$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$;

MM = matéria mineral; MS = matéria seca.

Essas considerações são importantes, uma vez que, diferente das lavouras destinadas à produção de grãos, a ensilagem utiliza a planta inteira e a colheita ocorre na fase reprodutiva da planta, momento em que o acúmulo de matéria seca deve-se ao crescimento da espiga, principalmente da fração de grãos, em detrimento da parte vegetativa. Considerando que o ponto de colheita para ensilagem ocorre antes do momento de máxima produção de matéria seca, a maior produção de massa dos híbridos transgênicos foi coerente com as maiores quantidades e percentuais de material morto e pendão, uma vez que os mesmos indicam estágio de maturidade mais avançado.

Assim, o crescimento mais rápido da planta com menores danos por pragas, promoveu ganho em altura e antecipação do transporte de carboidratos solúveis do colmo para os grãos. Por outro lado, se houvesse maior acúmulo de massa devido à antecipação no enchimento de grãos na lavoura transgênica seria esperada maior participação de espigas na massa de forragem. Entretanto, ocorreram dois efeitos aparen-

temente antagônicos, o maior enchimento dos grãos e maior participação do colmo na planta inteira devido ao seu alongamento durante a fase vegetativa. A maior participação do colmo na massa total contribuiu ao aumento na produção, mas reduziu proporcionalmente a participação dos grãos, o que pode resultar em menor qualidade da silagem.

As características estruturais e morfológicas das plantas influenciaram diretamente a composição química da mesma. Na composição química das folhas, colmos e espigas, os teores de alguns nutrientes sofreram efeito do híbrido e da introdução gene *Cry1Ab* (resistência a pragas) sem interações significativas (Tabela 3), enquanto outros apresentaram interação híbrido x gene *Cry1Ab* significativa (Tabela 4). Em geral as interações ocorreram devido a diferenças de duração do ciclo vegetativo dos híbridos.

Os teores de minerais nos híbridos transgênicos indicam maior enchimento dos grãos. Em particular o teor de P, devido à sua alta mobilidade na planta,

Tabela 3. Efeitos dos híbridos de milho DKB ou AG e da introdução do gene *Cry1Ab*(OGM) sobre a composição química da folha, colmo e espiga

	Efeitos principais							
	Híbrido		OGM			Probabilidades		
	DKB	AG	Convencional	<i>Cry1Ab</i>	C.V.	Híbrido	OGM	Interação
Folha								
Matéria seca	22,42	22,50	22,32	22,61	5,93	0,895	0,633	0,358
Proteína bruta	13,68 a	11,50 b	13,04 a	12,15 b	6,02	<0,0001	0,022	0,122
Extrato Etéreo	2,18	2,06	2,12	2,12	7,45	0,105	1,000	0,218
FDA	34,93 b	35,72 a	35,18	35,47	2,03	0,031	0,385	0,922
NIDA	15,72	14,81	12,35 b	18,18 a	24,87	0,603	0,005	0,740
Lignina	3,60 b	4,12 a	3,73 b	4,00 a	4,99	<0,0001	0,007	0,318
Celulose	29,39	29,58	29,65	29,32	2,22	0,527	0,284	0,797
DIV	57,40	55,82	53,93 b	59,29 a	7,17	0,399	0,012	0,081
CHO totais	75,65 b	78,46 a	76,65	77,46	1,11	<0,0001	0,056	0,112
Cinzas	8,47 a	7,95 b	8,17	8,25	2,69	0,0002	0,456	0,084
Ca	5,34 a	4,54 b	4,77 b	5,11 a	5,49	<0,0001	0,016	0,871
K	23,02 a	17,39 b	19,93	20,48	2,87	<0,0001	0,056	0,073
Colmo								
Matéria seca	20,81	20,81	20,55	21,07	6,03	0,997	0,372	0,409
Extrato Etéreo	0,57	0,50	0,60 a	0,47 b	21,24	0,175	0,028	0,939
NIDN	36,25 b	40,58 a	38,42	38,41	6,05	0,001	0,998	0,414
FDA	43,87 b	47,07 a	45,07	45,86	5,71	0,017	0,506	0,382
Lignina	6,81 b	7,54 a	7,07	7,27	8,17	0,017	0,458	0,376
Celulose	36,74 b	38,60 a	37,12	38,22	4,84	0,041	0,200	0,495
Hemicelulose	24,53 a	22,13 b	22,90	23,77	6,56	0,004	0,226	0,469
DIV	50,48	52,02	53,97 a	48,53 b	5,30	0,231	0,0008	0,851
CHO totais	92,25 b	92,93 a	92,40	92,78	0,47	0,004	0,079	0,149
Cinzas	4,33	4,34	4,33	4,35	4,30	0,860	0,787	0,971
P	0,22	0,20	0,24	0,18	41,69	0,618	0,151	0,151
Espiga								
Matéria seca	36,71	37,32	36,41	37,62	5,55	0,514	0,215	0,965
Proteína bruta	6,73	6,42	6,53	6,61	5,49	0,081	0,633	0,608
Extrato Etéreo	2,88	2,76	2,73	2,90	7,44	0,215	0,090	0,164
NIDN	22,83	22,51	22,45	22,89	11,00	0,783	0,700	0,506
FDA	20,45 a	18,88 b	20,05	19,28	5,14	0,004	0,112	0,854
Lignina	2,57	2,62	2,58	2,60	9,84	0,645	0,877	0,694
Celulose	17,88 a	16,25 b	17,46	16,67	5,15	0,001	0,066	0,505
Hemicelulose	26,83 a	28,77 b	27,68	27,92	5,45	0,014	0,725	0,837
CHO totais	88,71	89,15	89,07	88,78	0,56	0,075	0,218	0,524
Ca	0,23	0,22	0,24	0,21	19,45	0,618	0,151	0,151
P	1,82	1,69	1,64 b	1,87 a	8,27	0,068	0,004	0,191
K	5,38 a	4,94 b	5,19	5,13	7,06	0,019	0,719	0,136

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$); DKB = plantas de milho DKB390 da Dekalb; AG = plantas de milho AG8088 da Agroceres; Convencional = plantas de milho isogênicas ao DKB390 ou AG8088 sem o *Cry1Ab*; *Cry1Ab* = plantas de milho contendo o gene *Cry1Ab* do *Bacillus thuringiensis* (Bt); FDA = fibra em detergente ácido; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; DIV = digestibilidade *in vitro*; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro.

Tabela 4. Efeitos de interação dos híbridos de milho DKB ou AG, contendo ou não o gene *Cry1Ab* sobre a composição química da folha, colmo e espiga

	Interações							
	DKB		AG		C.V.	Probabilidades		
	Convencional	<i>Cry1Ab</i>	Convencional	<i>Cry1Ab</i>		Híbrido	OGM	Interação
Folha								
FDN	67,48 a	43,44 b	68,12 a	66,52 a	2,69	<,0001	<,0001	<,0001
NIDN	44,41 a	18,92 b	39,79 a	41,51 a	11,46	0,0004	<,0001	<,0001
Hemicelulose	32,71 ab	33,86 a	32,53 ab	30,67 b	3,99	0,013	0,549	0,023
CNF	8,09 c	32,28 a	9,60 bc	12,67 b	12,83	<,0001	<,0001	<,0001
P	1,82 ab	2,08 a	1,74 ab	1,58 b	11,18	0,007	0,589	0,038
Colmo								
Proteína bruta	3,12 a	2,55 b	2,19 b	2,22 b	9,70	<,0001	0,027	0,018
FDN	67,29 a	37,76 b	68,64 a	69,77 a	4,05	<,0001	<,0001	<,0001
NIDA	24,37c	35,81 b	44,30 a	42,68 a	9,21	<,0001	0,007	0,001
CNF	24,61b	54,82 a	24,25 b	23,20 b	8,73	<,0001	<,0001	<,0001
Ca	1,46 a	1,36 ab	1,16 b	1,30 ab	9,25	0,006	0,720	0,048
K	15,42 ab	14,54 ab	13,68 b	15,60 a	7,69	0,517	0,327	0,017
Espiga								
FDN	47,52 a	22,30 b	47,95 a	47,36 a	5,23	<,0001	<,0001	<,0001
NIDA	18,98 b	23,43 ab	27,39 a	20,76 b	10,76	0,021	0,335	0,0003
DIV	69,16 b	68,80 b	51,39 c	78,01 a	4,90	0,012	<,0001	<,0001
CNF	41,40 b	66,19 a	41,27 b	41,71 b	4,47	<,0001	<,0001	<,0001
Cinzas	1,60 b	1,73 a	1,69 a	1,63 b	5,09	0,856	0,324	0,030

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$);

DKB = plantas de milho DKB390 da Dekalb; AG = plantas de milho AG8088 da Agroceres;

Convencional = plantas de milho sem o *Cry1Ab*; *Cry1Ab* = plantas de milho contendo o gene *Cry1Ab* do *Bacillus thuringiensis* (Bt);

FDA e FDN = fibra em detergente ácido e neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido;

DIV = digestibilidade *in vitro*; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro;

CNF = carboidratos não fibrosos.

contribui para elucidar as ocorrências de enchimento dos grãos. O percentual de P do híbrido AG 8088 contendo o gene *Cry1Ab* foi inferior a sua contraparte convencional sem o gene *Cry1Ab* na folha (Tabela 4) e no colmo (Tabela 3) e superior na espiga (Tabela 3), indicando maior transferência do nutriente para os grãos.

O híbrido DKB 390 contendo o gene *Cry1Ab* teve menor percentual de PB (Tabela 4) e maior percentual de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) (Tabela 4) no colmo, entretanto houve maior percentual de CNF na espiga (Tabela 4) comparado a sua contraparte. Essa alteração na composição química deve-se a maior altura da planta, perda de folhas e participação do colmo, concomitantemente a antecipação no enchimento dos grãos.

Embora a digestibilidade *in vitro* da espiga do AG 8088 contendo o gene *Cry1Ab* tenha sido superior à da espiga de sua contraparte (Tabela 4), devido ao maior enchimento dos grãos, o estágio fisiológico avançado reduz a digestibilidade *in vitro* do colmo (Tabela 3). Os percentuais de proteína e de lignina

das folhas dos híbridos contendo o gene *Cry1Ab* foram inferiores e superiores aos híbridos convencionais sem o gene *Cry1Ab*, respectivamente, (Tabela 3).

Os teores de K (Tabela 4) e a digestibilidade *in vitro* (Tabela 3) do colmo do AG 8088 contendo o gene *Cry1Ab* foram superiores e inferiores a sua contraparte, respectivamente. O maior teor de K deve-se a maior participação do colmo na planta e está relacionado à resistência contra pragas pela rigidez da parede celular. Com o avanço no estágio de maturidade houve menor aproveitamento de constituintes fibrosos do colmo e maior produção de nutrientes altamente digestíveis na espiga.

Uma das hipóteses de alteração no aproveitamento dos nutrientes de plantas transgênicas pelos animais estaria relacionada ao depósito de lignina na parede celular como mecanismo de defesa natural das plantas contra pragas (RYALS *et al.*, 1994; STASKAWICZ *et al.*, 1995), mas no momento de corte indicado para ensilagem, os resultados mostraram uma tendência inversa de aumento da fibra devido ao avanço na maturidade da planta transgênica. Dessa forma, diferente

da hipótese de que plantas resistentes a pragas, ao reduzir os danos por pragas, poderiam evitar a manifestação de mecanismos de defesa da planta, prevalece o efeito do maior desenvolvimento estrutural da planta transgênica com menos danos por pragas, incluindo ganhos em altura e maior participação de colmo na massa total.

Sendo as diferenças constatadas atribuídas às condições ambientais, ciclo vegetativo e momento do corte, sem o ataque de pragas não houve diferença na composição química da planta transgênica que pudesse ser atribuída à introdução do gene *Cry1Ab* por si só. Assim sendo, na ausência de danos por pragas, os resultados de composição química entre as modalidades de milho Bt e não Bt seriam equivalentes. Outra situação que pode eventualmente nivelar as composições químicas de plantas transgênicas e convencionais, seria a correção do momento do corte, por atenuar efeitos de diferentes velocidades de crescimento das plantas. Em ambas as situações, ausência de danos por pragas e/ou alteração no momento do corte, pode ocorrer equivalência nutritiva entre plantas convencionais e transgênicas, assim como obtido por CALSAMIGLIA *et al.* (2007), FAUST *et al.* (2007), FAUST (1999) e FAUST e SPANGLER (2000), com a colheita da planta variando entre 37 a 42% de MS. O presente trabalho inclui forragens danificadas por pragas e colhidas mais cedo, por serem ocorrências mais comuns nas condições operacionais brasileiras.

CONCLUSÃO

A maior velocidade de crescimento e desenvolvimento estrutural da planta transgênica com menos danos por pragas e maior número de plantas por hectare, promove o alongamento do colmo, ganho em altura e maior participação de colmo na massa de forragem. Embora ocorra o benefício de maior enchimento dos grãos na planta transgênica em relação ao isogênico próximo, as plantas transgênicas podem favorecer o conteúdo de nutrientes digestíveis, devido ao aumento no teor de carboidratos não fibrosos, quando colhidas mais cedo, ou desfavorecer o conteúdo de nutrientes digestíveis, em virtude da maior participação do colmo e maiores teores de lignina no colmo, quando colhidas mais tarde.

AGRADECIMENTO

À FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 10.ed. Washington, D.C., 1980. 1015p.
- CALSAMIGLIA, S.; HERNANDEZ, B.; HARTNELL, G.F.; PHIPPS, R. Effects of corn silage derived from genetically modified variety containing two transgenes on feed intake, milk production, and composition, and the absence of detectable transgenic deoxyribonucleic acid in milk in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4718-4723, 2007.
- CARVALHO, R. P. L. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e suscetibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo**. 1970. 170f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1970.
- FAUST, M. A.; SPANGLER, S.M. Nutritive value of silages from MON810 Bt and non-Bt near-isogenic corn hybrids. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1184, 2000.
- FAUST, M. A. **Research update on Bt corn silage**. In: Four Stage Applied Nutrition and Management Conference, 1999, Ames, IA: Midwest Plan Service, 1999. p.157-164.
- FAUST, M.; SMITH, B.; RICE, D.; OWENS, F.; HINDS, M.; DANA, G.; HUNST, P. Performance of lactating dairy cows fed silage and grain from a maize hybrid with the *Cry1F* trait versus its nonbiotech counterpart. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5706-5713, 2007.
- JOHNSON, R.R., BALWANI, T.L.; JOHNSON, L.J.; McCLURE, K.E.; DEHORITY, B.A. Corn plant maturity. II. Effect on in vitro cellulose digestibility and soluble carbohydrate content. **Journal of Animal Science**, v.25, p.617-623, 1966.
- MARGIS-PINHEIRO, M.; MARTIN, C.; DIDIERJEAN, L.; BURKARD, G. Differential expression of bean chitinase genes by virus infection, chemical treatment and UV irradiation. **Plant Molecular Biology**, v. 22, p.659-668, 1993.
- RYALS, J.; UKNES, S.; WARD, E. Systemic acquired resistance. **Plant Physiology**, v. 104, p. 1109-1112, 1994.
- STASKAWICZ, B.; AUSUBEL, F.M.; BAKER, B.J.; ELLIS, J.G.; JONES, J.D.G. Molecular genetics of plant disease resistance. **Science**, v. 268, p. 661-667, 1995.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.

Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. 1.ed. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

Van SOEST, P.J. Development of a comprehensive system for analysis and its application to forage. **Journal of Animal Science**, v.26, p.119-128, 1967.

Van SOEST, P.J. Preharvest factors influencing quality of conserved forage. **Journal of Animal Science**, v.47, p.712-720, 1978.

Van SOEST, P.J. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

WIDSTROM, N. W. An evaluation of methods for measuring corn earworm injury. **Journal of Economic Entomology**, v.60, p.791-794, 1967.