

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DE CULTIVARES DE ALGODOEIRO QUE  
EXPRESSAM AS PROTEÍNAS Cry1Ac E Cry1F NOS  
PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Chrysodeixis includens*  
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Daniela de Lima Viana**

Bióloga

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DE CULTIVARES DE ALGODOEIRO QUE  
EXPRESSAM AS PROTEÍNAS CRY1AC E CRY1F NOS  
PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *Chrysodeixis includens*  
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Daniela de Lima Viana**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola)

**2014**

Viana, Daniela de Lima

V614e

Efeito de cultivares de algodoeiro que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F nos parâmetros biológicos de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) / Daniela de Lima Viana. - Jaboticabal, 2014

v, 42p. : il. ; 28cm

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Antonio Carlos Busoli

Banca Examinadora: Marcos Doniseti Michelotto, Arlindo Leal Boiça Júnior

Bibliografia

1. Algodão transgênico. 2. Bollgard I®. 3. Lagarta falsa-medideira. 4. WideStrike®. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:633.51

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.  
e-mail: arnold@cnpso.embrapa.br

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**DANIELA DE LIMA VIANA** – Nascida no dia 28 de outubro de 1985, na cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba, filha de Antônio Bonildo Viana e Maria Rejane de Lima. Formada no Curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual da Paraíba, na cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba no ano de 2010. Estagiou e foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no Laboratório de Entomologia do Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPq) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) de Julho de 2008 à Julho de 2010. No ano de 2012 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, Estado de São Paulo. Foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e desenvolveu o projeto da Dissertação na linha de pesquisa em Manejo Integrado de Pragas, Entomologia Agrícola, sob orientação do Professor Dr. Antonio Carlos Busoli, cujos resultados estão descritos nesta dissertação.

E-mail: [danielaviana28@gmail.com](mailto:danielaviana28@gmail.com)

Não vos inquieteis, pois, com o dia de amanhã, o dia de amanhã terá as suas preocupações próprias. Basta a cada dia a própria dificuldade.”  
(Mateus 6, 34)

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”  
Cora Coralina

“É justamente a possibilidade de realizar um sonho que torna a vida interessante.”  
Paulo Coelho

*À Deus, por tudo que me tem concedido,  
pela saúde e disposição para superar obstáculos,  
me iluminando em todos os momentos de minha vida,*  
**Agradeço**

*Aos meus pais, Antônio Bonildo Viana e Maria Rejane de Lima, por serem os alicerces da  
minha vida, e aos meus irmãos, Hélder de Lima Viana e Rodolfo de Lima Viana, pelo apoio  
e carinho de sempre, com amor,*  
**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pela proteção, por iluminar meu caminho para a realização deste trabalho e por me permitir vencer mais uma etapa;

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, através do Departamento de Fitossanidade e do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela oportunidade concedida para a realização desse trabalho e a obtenção do título de Mestre;

Aos **docentes** do curso de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, pelos conhecimentos transmitidos, que me proporcionou a formação acadêmica contribuindo para o meu crescimento profissional e humano;

Ao **Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli**, pela orientação, incentivo, ensinamentos, disponibilidade e atenção durante toda a realização deste trabalho, bem como em diversos outros, no decorrer de todo o meu mestrado;

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado, fornecendo subsídio financeiro para realização deste trabalho;

Aos meus **familiares**, por me ensinarem o que é amor, respeito, compreensão e tolerância, e pelo apoio durante todos os momentos da minha vida;

Aos meus pais **Antônio Bonildo Viana** e **Maria Rejane de Lima**, por acreditarem em mim, pelo carinho incondicional, pelo incentivo aos meus estudos e por compartilhar as minhas experiências de vida, em especial a **minha mãe**, exemplo de força e fé, por estar presente em todos os momentos, que me ensinou a perseverar nos momentos mais difíceis, pelo amor, dedicação e educação;

Aos meus estimados irmãos, **Hélder de Lima Viana** e **Rodolfo de Lima Viana**, pela paciência, apoio e carinho dedicados a mim durante todo o meu Curso de Mestrado, bem como durante todos os momentos da minha vida, por serem cúmplices de todas as minhas conquistas;

Ao meu sobrinho **Pedro Henrique**, pela alegria transmitida naturalmente, pelo carinho e amor a cada volta pra casa;

Aos funcionários e amigos do Departamento de Fitossanidade, **José Altamiro de Souza, Lígia Dias Tostes Fiorezzi, Alex Ribeiro, Zulene Ribeiro**, pela disposição em ajudar a qualquer momento;

Ao meu namorado **Jacob Crosariol Netto**, por todos os momentos em que estive ao meu lado, me dando forças para seguir e conquistar essa etapa, pela companhia, carinho, respeito e paciência;

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas **Diego Felisbino Fraga, Leandro Aparecido de Souza, José Fernando Jurca Grigolli, Marina Funichello, Letícia Serpa dos Santos, Oniel Jeremías Aguirre-Gil, João Rafael De Conte Carvalho de Alencar, Lumey Perez, Elias Almeida da Silva, Roseli Pessoa e Diego Olympio Peixoto Lopes** pela amizade, respeito, compromisso e pela troca de experiências durante todo o tempo de convivência;

Aos amigos do curso de Pós-graduação (Entomologia Agrícola), **Maíra Trevisan, Luan Odorizzi dos Santos, Mirian Kubota e Marina Viana** pela amizade e companheirismo em atividades inerentes ao curso ou não;

À **Marilene Aparecida da Costa e Nara Elisa Lobato** pelos bons momentos que passamos juntas, pelo apoio e pela amizade que construímos nos últimos anos;

Às minhas estimadas amigas, **Moema Fernandes, Gislane Ozório, Jaqueline Florêncio, Any Giselle, Mariana Medeiros, Sibeles Nara** e meu grande amigo **Rick Anderson** por tudo que vivemos, pela amizade verdadeira, apoio nos momentos de dificuldades e por compartilhar comigo momentos preciosos de descontração;

Enfim, à todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente e que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

**Muito Obrigada!**



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	ii
ABSTRACT .....	iii
INDICE DE FIGURAS .....	iv
INDICE DE TABELAS .....	v
1 – INTRODUÇÃO .....	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 – Generalidades sobre a cultura do algodoeiro e o complexo de espécies de insetos-praga .....	4
2.2 – <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae): características biológicas e comportamentais .....	6
2.3 – Plantas geneticamente modificadas resistentes à insetos .....	9
3 – MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1 – Descrição do local e do cultivo .....	14
3.2 – Criação de manutenção de <i>C. includens</i> .....	15
3.3 – Parâmetros biológicos de <i>C. includens</i> em duas cultivares transgênicas e suas respectivas isolinhas convencionais de algodoeiro ....	16
3.3.1 – Fase larval e pupal .....	17
3.3.2 – Fase adulta .....	18
3.4 – Delineamento e análise estatística .....	19
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
5 – CONCLUSÕES .....	31
6 – REFERÊNCIAS .....	32

**EFEITOS DE CULTIVARES DE ALGODOEIRO QUE EXPRESSAM AS  
PROTEÍNAS CRY1AC E CRY1F NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE  
*Chrysodeixis includens* (WALKER: 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**RESUMO** – O algodão *Gossypium hirsutum* (L.) é uma Malvaceae cultivada em várias regiões do Brasil e do mundo, devido à versatilidade da sua produção, sendo a principal matéria-prima para a indústria têxtil, devido às características e utilidades de sua fibra, sendo utilizado também para a produção de óleo e outros subprodutos. A importância econômica do algodão atrela-se à questão do controle de insetos-praga como sendo um dos fatores que traz a maior parcela de custos na produção dessa cultura. A lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), de maior ocorrência na cultura da soja até a década passada, vem causando sérios danos nas regiões produtoras de algodão. Entre os principais avanços para o controle de pragas, pode-se citar a disponibilidade de cultivares de algodoeiro geneticamente modificadas com genes oriundos da bactéria *Bacillus thuringiensis*, onde essas plantas transgênicas expressam cristais proteicos com efeito inseticida, com a finalidade de controlar lepidópteros pragas que possam vir a ser prejudiciais à cultura. Os eventos de algodão Bt que expressam as proteínas Cry1Ac (Bollgard I<sup>®</sup>) e Cry1Ac mais Cry1F (WideStrike<sup>®</sup>) são ferramentas atuais e disponíveis para o manejo desse inseto-praga, afim de subsidiar o Manejo Integrado de pragas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de cultivares transgênicas de algodoeiro que expressam a proteína Cry1Ac e que expressam as proteínas Cry1Ac mais Cry1F, nos parâmetros biológicos de *C. includens* e visando determinar a sobrevivência da espécie. O estudo foi realizado em laboratório, sob condições controladas, utilizando lagartas neonatas que foram alimentadas durante toda a fase larval com folhas das cultivares transgênicas NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) e FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>) e suas respectivas isolinhas convencionais, DeltaOPAL e FM 993. Em cada cultivar, os parâmetros biológicos observados foram: duração média e viabilidade da fase larval, duração média e viabilidade da fase pupal, peso médio de lagartas aos 13 dias de idade e de pupas com 24 horas de formação, razão sexual, duração do período de lagarta a adulto, período de pre-oviposição, oviposição e pós-oviposição, número médio total de ovos/fêmea, viabilidade de ovos e longevidade de machos e fêmeas. As lagartas alimentadas com a cultivar transgênica FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>) apresentaram mortalidade de 100% até o segundo dia de idade, enquanto que as alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL apresentaram sobrevivência de 62% na fase larval. Portanto, a cultivar que expressa as proteínas tóxicas Cry1Ac e Cry1F afetam os parâmetros biológicos suprimindo de maneira eficiente as populações da praga, logo no 1<sup>o</sup> instar larval. Enquanto que a cultivar que expressa somente a proteína Cry1Ac não apresenta eficiência na supressão da praga se comportando de modo similar a sua isolinha convencional DeltaOPAL.

**Palavras-chave:** algodão transgênico, Bollgard I<sup>®</sup>, lagarta falsa-medideira, WideStrike<sup>®</sup>

**EFFECTS OF COTTON CULTIVARS EXPRESSING CRY1AC AND CRY1F PROTEINS IN THE BIOLOGICAL PARAMETERS OF THE *Chrysodeixis includens* (WALKER: 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**ABSTRACT** – The cotton *Gossypium hirsutum* (L.) is a Malvaceae cultivated in various regions of Brazil and the world, due to the versatility of its production. The cotton is the main raw material for the textile industry, due to the characteristics and utility of its fiber; it is being also used for the production of oil and other sub products. The socioeconomic importance of cotton is located in the control of insect pests as a factor that brings the greatest costs in the production of this crop. The soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) of greater occurrence in the soybean crop until the last decade, is causing serious damages in the cotton regions. Among the main advances, in control of pests, could cite the availability of genetically modified cotton cultivars with gens coming of the bacteria *Bacillus thuringiensis*, where this transgenic plants express protein crystals with insecticide effects to control Lepidoptera pests that can become prejudicial to cotton. The events of cotton expressing Cry1Ac and, Cry1Ac and Cry1F proteins which are current and available tools to the management of this insect pest, in order to subsidize the integrated pest management. In this way, the objective of this study was to evaluate the effects of transgenic cotton cultivars expressing the Cry1Ac and, Cry1Ac and Cry1F proteins, in the biological parameters of *C. includens* and aiming at to determine the survivor of the species. This study was developed in the laboratory, in controlled conditions, it was used neonate larvae that were fed over the entirely larval phase with leaves of the transgenic cultivars, NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) and FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>), and their respective conventional isolines, DeltaOPAL and FM 993. In each cultivar, the biological parameters observed were average duration and viability of larval phase, average duration and viability of the pupal phase, average weight of larvae with 13-d old and pupae with 24-h of formation, sex ratio, duration of the period larva to adult, pre-oviposition, oviposition, pos-oviposition period, average number of eggs per female, viability of eggs and longevity of male and female. The larvae fed on the transgenic cultivar, FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>), presented 100% of mortality until the second day old while the ones fed on the transgenic cultivar, NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>), presented 62% of survivor in the larval phase. Therefore, the cultivar expressing the Cry1Ac and Cry1F protein affects the biological parameters, efficiently suppressing pest populations soon in the 1<sup>st</sup> larval instar. However, the cultivar expressing only the Cry1Ac do not present efficiency in the suppression of the pest, behaving in the similar way to its conventional isolate, Delta OPAL.

**Keywords:** transgenic cotton, Bollgard I<sup>®</sup>, soybean looper, WideStrike<sup>®</sup>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Tubos de PVC utilizados para criação estoque de <i>Chrysodeixis includens</i> (à esquerda) e folhas de papel sulfite para obtenção de ovos (à direita). Jaboticabal – SP, 2013 .....	16
2. Recipientes plásticos contendo folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas utilizados para estudos biológicos de <i>Chrysodeixis includens</i> nas fases larval e de pupa. Jaboticabal - SP, 2013 .....	17
3. Balança de precisão com quatro casas decimais utilizada para pesagem das lagartas e pupas de <i>Chrysodeixis includens</i> . Jaboticabal – SP, 2013 .....	18
4. Aspecto geral para estudos biológicos de <i>Chrysodeixis includens</i> na fase adulta. Jaboticabal – SP, 2013. ....	18
5. Número médio de ovos por dia de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas com cultivares comerciais transgênica e não transgênicas de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2013 .....	28

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela</b>	<b>Página</b>
1. Duração média $\pm$ EP (dias) dos estádios larvais de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013 .....	21
2. Duração média $\pm$ EP (dias) e viabilidade média (%) da fase larval, peso médio $\pm$ EP (g) de lagartas aos 13 dias de idade e duração média $\pm$ EP (dias) do período lagarta - adulto de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013 .....	24
3. Duração média $\pm$ EP (dias) e viabilidade média (%) da fase de pupa, razão sexual e peso médio $\pm$ EP (g) de pupas com 24 horas de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013 .....	25
4. Duração média $\pm$ EP (dias) dos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas na fase larval com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013 .....	26
5. Número médio $\pm$ EP de ovos por fêmea, viabilidade de ovos (%) e longevidade média $\pm$ EP (dias) de machos e fêmeas de <i>Chrysodeixis includens</i> alimentadas na fase larval com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013 .....	29

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, quando da chegada dos portugueses, os índios já cultivavam, fiavam e teciam o algodão (CORREA; COUTO, 2007). Atualmente no Brasil, o algodoeiro é cultivado em 18 estados, e a produção nacional de algodão em caroço na safra 2012/2013, foi de aproximadamente 3.271,9 mil toneladas, enquanto a produção de algodão em pluma foi de 1.290,4 mil toneladas (CONAB, 2013).

O algodoeiro pertence ao gênero *Gossypium*, da família Malvaceae, e conta com mais de 50 espécies distribuídas nos continentes Asiático, Africano, Americano e Oceania. A espécie *Gossypium hirsutum* L., conhecida nos Estados Unidos como algodão “Upland” e no Brasil denominada de algodoeiro “herbáceo” ou “anual”, é responsável por mais de 90% da produção mundial de algodão (BUSOLI et al., 2011).

A planta de algodoeiro apresenta um grande número de insetos consideradas como pragas, que durante o ciclo da cultura são capazes de reduzir a produtividade, resultando em prejuízos consideráveis para o cotonicultor (TOMQUELSKI, 2005). O controle dessas pragas é realizado normalmente com inseticidas, os quais nem sempre são eficientes, além de reduzirem a população de inimigos naturais (PAPA, 2003).

As mudanças ocorridas na cotonicultura brasileira acarretaram intenso processo de reestruturação produtiva no setor, cuja face mais aparente foi o aumento considerável da área cultivada por algodoeiro no cerrado da região Centro-Oeste, principalmente nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e sudoeste da Bahia (BUSOLI; MICHELOTTO; ROCHA, 2006; FERREIRA FILHO; ALVES, 2007). Como alternativa para a rotação com a cultura da soja, os produtores da Região Centro-Oeste viram no algodão uma grande oportunidade de negócios. No entanto, a lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), de maior ocorrência na soja até a década passada, vem causando danos econômicos consideráveis na cultura do algodoeiro (BUSOLI et al., 2011).

O ataque das lagartas dessa espécie, ocorre nas folhas localizadas abaixo da metade inferior das plantas, dificultando assim, a ação e o efetivo controle via aplicação de inseticidas, pois nas aplicações convencionais é relativamente reduzida

a quantidade de inseticidas que atingem os estratos inferiores das plantas (ANDRADE JUNIOR; VILELA, 2009).

Como alternativa aos métodos de controle convencionais, o uso de plantas transgênicas na agricultura tem aumentado nos últimos anos, através das técnicas de modificações genéticas promovidas pela biotecnologia, que tem sido considerada como um dos grandes avanços na agricultura, onde segundo Fontes et al. (2002), o desenvolvimento dessa tecnologia só se compararia a revolução verde ocorrida na década de 1970.

O uso de plantas geneticamente modificadas contendo genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) visando proteção completa da planta ao longo do seu desenvolvimento contra espécies de lepidópteros e coleópteros, tem obtido grande destaque no cenário agrícola mundial (JAMES, 2009).

A partir de 2005, através da liberação comercial da cultivar Bollgard I® Evento 531 da Monsanto, denominada comercialmente de NuOPAL, muitas pesquisas estão sendo realizadas, voltadas para verificar o desempenho desta cultivar, que expressa a proteína tóxica Cry1Ac (CTNBio, 2005). Apesar de controlar efetivamente algumas das pragas-chave alvos na cultura do algodoeiro, outras espécies de lepidópteros são afetados apenas subletalmente por essas toxinas expressas por esta cultivar (ARAÚJO, 2009).

Em 2009, houve no Brasil, a liberação comercial da variedade que expressa duas proteínas tóxicas piramidadas, Cry1Ac e Cry1F, algodão denominado comercialmente de WideStrike® (Dow AgroSciences) (MALAQUIAS, 2012). A expressão pelas plantas de duas proteínas tóxicas, confere maior espectro de ação para o controle de lepidópteros-praga e possibilita, em alguns casos, retardar a evolução da resistência de insetos à toxinas expressas pelo algodão Bt (OMOTO, 2008).

Desta forma, há a necessidade de realizar testes laboratoriais, que visam quantificar os efeitos adversos de cultivares transgênicas que expressam diferentes proteínas tóxicas na sobrevivência, desenvolvimento e reprodução, frente a essa nova praga do algodoeiro *C. includens*, comparando-as com suas respectivas isolinhas convencionais.

Estudos realizados por Funichello et al. (2013), utilizando *C. includens*, constataram 56% de sobrevivência das lagartas alimentadas com a cultivar Bt, que expressa a toxina Cry1Ac.

Dessa maneira, os objetivos deste trabalho foram avaliar os efeitos de cultivares transgênicas de algodoeiro que expressam a proteína Cry1Ac, como a NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>), e que expressam as proteínas Cry1Ac mais Cry1F, como a FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>), comparadas com as suas respectivas isolinhas convencionais, DeltaOPAL e FM 993 em laboratório, sobre os parâmetros biológicos de *C. includens*.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Generalidades sobre a cultura do algodoeiro e o complexo de espécies de insetos-praga

A família Malvaceae, a qual pertence o algodoeiro, apresenta distribuição mundial com centro de dispersão nas regiões tropicais. Esta família possui 85 gêneros e mais de 1.500 espécies (JOLY, 1983). A importância econômica dessa família está nas espécies produtoras de fibras e o algodoeiro é a planta produtora de fibra mais importante do mundo (HAYWARD, 1938; BERRIE, 1977).

O gênero *Gossypium* possui 52 espécies de ampla distribuição, mas apenas quatro espécies do gênero são cultivadas e exploradas economicamente. No Brasil, são encontradas três espécies de algodoeiro: *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. e *G. mustelinum* (Mier). Destas, *G. mustelinum* é a única espécie nativa do Brasil, especificamente da Região Nordeste do país, mas não é uma espécie de importância econômica. *G. barbadense* é encontrada na forma semi-domesticada e em algumas áreas no Piauí e *G. hirsutum* apresenta duas raças, dentre elas *G. hirsutum latifolium* Hutch, denominado de algodoeiro “herbáceo” ou “anual” (BARROSO; FREIRE, 2003).

O algodoeiro *G. hirsutum* L. já era cultivado desde 4.000 e 2.500 a.C. na Índia e no norte do Peru, respectivamente. Essa espécie teve origem na Índia e expandiu-se para diversos países como Paquistão, Tailândia, China, Irã, Síria, Turquia e Grécia. Nos séculos IX e X, os conquistadores árabes disseminaram essa malvácea pelas regiões mediterrâneas. Presume-se que, nos países das Américas, o algodoeiro seja originário da América Central, possivelmente nas regiões que abrangem o México e Guatemala, onde posteriormente, se propagou para outros países como Nicarágua, Colômbia, Brasil e Argentina (CARVALHO, 1996).

O algodoeiro *G. hirsutum* (L.) é cultivado em várias regiões do Brasil e do mundo, sendo explorada economicamente numa ampla faixa tropical e em algumas regiões subtropicais. Essa espécie contribui com 90% da produção mundial de algodão e seu cultivo apresenta grande importância social e econômica para o Brasil devido à versatilidade da sua produção, sendo a principal matéria-prima utilizada na

indústria de fiação e tecelagem, devido às características e utilidades de sua fibra. Sendo as sementes também utilizadas na indústria de alimentação animal (farelo) e humana (óleo), além de grande número de produtos secundários (AGOPA, 2009; SOUSA et al., 2010).

O algodoeiro produz uma das mais importantes fibras têxteis do mundo, pois oferece variados produtos de utilidade com grande relevância na economia brasileira e mundial, razão que a faz ser considerada uma das plantas de mais completo aproveitamento, figurando entre as dez maiores fontes de riqueza do agronegócio do Brasil (COSTA et al., 2005).

De acordo com Melo Filho et al. (2001), a razão de sua importância reside nas notáveis propriedades que a caracterizam: as roupas confeccionadas por algodão, as sementes de algodão ter considerável interesse alimentar sendo utilizadas para extração de óleo comestível e na indústria, o óleo é utilizado na fabricação de margarina, sabão e tintas, o farelo que se obtêm depois da extração do óleo é aproveitado para a alimentação animal, pois possui de 40 a 45% de proteína, o tegumento que é usado para fabricar certos tipos de plásticos e de borrachas sintéticas e, a fibrila usada na indústria química de plásticos e explosivos.

Na última década, a cultura do algodoeiro apresentou significativas alterações em seus índices de produtividade e distribuição geográfica, migrando de áreas tradicionalmente produtoras para o cerrado brasileiro, basicamente para a Região Centro Oeste (CONAB, 2011). Com as condições de clima favorável, apresentando estação seca e chuvosa bem definida, luminosidade uniforme, fez com que o algodoeiro se tornasse uma oportunidade de negócios, além disso, era uma alternativa para rotação desta cultura com outras culturas economicamente importantes, como a soja (FONTES et al., 2006).

Essa posição de destaque foi conquistada graças a uma eficiente rede de pesquisa e produção de sementes de alta qualidade e pureza (SILVIE; BÉLOT; MICHEL, 2007), e o desenvolvimento de novas cultivares com maior potencial produtivo, resistentes às principais pragas e, principalmente, com qualidade de fibra superior para atender as exigências do mercado internacional (CORREA; COUTO, 2007).

A planta de algodoeiro apresenta um grande número de insetos considerados como pragas, que durante o ciclo da cultura reduzem a produtividade, resultando em prejuízos consideráveis para o cotonicultor. Na Região Centro Oeste, a intensidade do ataque de insetos-pragas, tem obrigado os produtores a realizarem de 12 a 20 pulverizações anuais na cultura para seu controle, encarecendo a produção (TOMQUELSKI, 2005).

Esses insetos apresentam elevada capacidade reprodutiva e ampla dispersão e adaptação, infestando rapidamente as plantações, ocasionando danos significativos na cultura do algodão, atacando basicamente todas as estruturas da planta, como raízes, caule, folhas, botões florais, maçãs e capulhos (SANTOS, 2007).

Segundo Busoli et al. (2011), dentre as principais pragas da parte aérea, destacam-se as lagartas desfolhadoras e as que atacam as estruturas reprodutivas, pois causam elevada desfolha e/ou causam danos diretos e indiretos aos botões florais e às maçãs, reduzindo a produtividade do algodão.

O plantio de algodão em áreas próximas de diferentes culturas com fenologias distintas, como é o caso da soja e do milho, que são cultivados no verão, além de plantas de cobertura na entressafra, pode favorecer o movimento dessas pragas entre os cultivos (NAGOSHI, 2009). Dessa forma, a lagarta falsa-medideira da soja, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), tem causado danos econômicos consideráveis na cultura do algodoeiro nos últimos anos.

## **2.2 *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae): Características biológicas e comportamentais**

Essa espécie da Ordem Lepidoptera, foi por muito tempo referido como *Pseudoplusia includens* e mesmo publicações recentes de 2010 e 2011 ainda continuam usando essa nomenclatura. Entretanto, Goater et al. (2003), ao reavaliar o gênero *Pseudoplusia*, o reclassificaram para o gênero *Chrysodeixis*, que, de acordo com os sistematas desse grupo, é a classificação válida atualmente. Independentemente do nome científico que seja utilizado, é de grande importância a correta identificação desse inseto no campo (MOSCARDI et al., 2012)

*Chrysodeixis includens* é uma espécie com ampla distribuição geográfica, podendo ocorrer do extremo norte dos Estados Unidos da América até o extremo sul da América do Sul (ALFORD; HAMMOND JR., 1982). Esse lepidóptero tem sua forma jovem popularmente conhecida como lagarta falsa-medideira da soja e, é um inseto polífago com capacidade de se desenvolver em 73 espécies de plantas hospedeiras no Brasil, pertencentes a 29 famílias (BERNARDI, 2012).

Inicialmente, lagartas de *C. includens* foram observadas atacando feijoeiro, repolho, quiabeiro, batata-doce, fumo e tomateiro (BOTTIMER, 1926; WOLCOTT, 1936). Posteriormente, as lagartas foram observadas atacando também algodão e soja (HENSLEY; NEWSON; CHAPIN, 1964). A polifagia é uma característica que pode colaborar com a dinâmica populacional e condição de praga agrícola, uma vez que as populações podem se desenvolver, simultaneamente, em diferentes plantas hospedeiras dentro de uma região ou podem persistir no ambiente em baixa densidade até a fêmea encontrar um hospedeiro capaz de sustentar o desenvolvimento das lagartas (MOSCARDI et al., 2012).

Os adultos desta espécie são mariposas com 35 mm de envergadura, as asas anteriores são de coloração escura, com duas manchas prateadas brilhantes na parte central, e as asas posteriores são de coloração marrom (GALLO et al., 2002; SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Lingren et al. (1977) observaram que o acasalamento desta espécie ocorre, normalmente, entre 22h e 4h, e Tumlinson et al. (1972) constataram a importância da emissão do feromônio sexual pelas fêmeas nesse processo.

Segundo Jost e Pitre (2002), em condições de temperatura e umidade favoráveis (usualmente em condições controladas de criações de laboratório), cada fêmea pode ovipositar, em média, 700 ovos durante seu ciclo de vida. Segundo Vázquez (1986) o número total médio de ovos pode variar de 144 a 1953 ovos, sendo que 80 a 90 % do total destes são ovipositados até o sétimo dia de idade das fêmeas.

Os ovos são colocados isoladamente na face inferior das folhas e nos ponteiros (FUNICHELLO; GRIGOLLI; BUSOLI, 2011). Estes ovos são globulares, medindo, aproximadamente, 0,5 mm de diâmetro e apresentam coloração creme-clara logo após a oviposição e marrom-clara próximo à eclosão das lagartas. O desenvolvimento embrionário, em média, se dá em torno de 2,5 dias (PETERSON, 1964). Em estudos realizados no Brasil por Bueno et al. (2009), foi observado que o ovo de *C. includens*

apresenta diâmetro de 0,52 mm a 0,53 mm, de cor amarela brilhante com 31 a 33 costas radiais e distintas costas transversais, sendo que a dieta pode alterar a coloração dos ovos.

As lagartas ao eclodirem são de coloração verde-clara, com listras longitudinais brancas e pontuações pretas, e quando desenvolvidas atingem de 40 a 45 mm de comprimento em seu último estágio larval (SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Silvie et al. (2007) observaram que, as lagartas são do tipo “mede-palmo”, pois tem apenas dois pares de falsas pernas abdominais. Quando as lagartas se desenvolvem em dieta artificial, observou-se a variação de cinco a sete instares, com predominância de seis instares (cerca de 92%) (SHOUR; SPARKS, 1981)

Quando ainda pequenas (primeiro ao terceiro ínstar), as lagartas preferem se alimentar de folhas novas, com baixo teor de fibras, enquanto lagartas mais desenvolvidas tornam-se menos exigentes, passando a se alimentar de folhas mais velhas e mais fibrosas (BERNARDI, 2012).

No Brasil, tanto lagartas pequenas como grandes de *C. includens*, têm sido frequentemente encontradas alimentando-se do terço inferior das plantas e de folhas tenras de ramos secundários em plantas de soja e algodão (PAPA; CELOTO, 2007; SANTOS; BARBOSA; PEDROSA, 2010). Outra característica marcante desta espécie, é que no primeiro e segundo ínstar apenas raspam as folhas, enquanto, a partir do terceiro ínstar, conseguem perfurá-las, deixando, entretanto, as nervuras centrais e laterais intactas, proporcionando aspecto característico de folhas rendilhadas, diferente do dano causado por outros desfolhadores (HERZOG, 1980; BUENO et al., 2007).

Dentro de cada ínstar, a lagarta sofre uma perceptível mudança na coloração, de verde-amarronzada-clara enquanto se alimenta, para verde-limão translúcida (SMILOWITZ, 1973). O início da transformação em pré-pupa é caracterizado por uma acentuada mudança de coloração, envolvendo alterações no sistema hormonal, como: parada na alimentação, mudança para coloração verde amarelada uniforme, liberação do último “pellet” fecal de coloração amarelo brilhante, início da construção do casulo e perda de mobilidade (VÁZQUEZ, 1986). As lagartas constroem uma teia de fios onde se transformam em pupa, em geral na face abaxial das folhas (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

A coloração da pupa de *C. includens* varia de amarelo-pálida para verde-clara no início do desenvolvimento, com pigmentação dorsal irregular até 48 horas antes da emergência. Funichello (2012) observou que o período pupal dura de 6 à 7 dias quando as lagartas foram alimentadas com folhas de cultivar transgênica de algodoeiro NuOPAL e sua isolinha convencional DeltaOPAL, respectivamente.

É importante salientar que o padrão de coloração é afetado pelo tipo da dieta em que a lagarta se desenvolve. Nesse período, as pupas passam de uma tonalidade escurecida para coloração verde-clara e ficam com a cutícula pupal gradualmente escurecida. Doze horas antes da emergência, a cutícula e demais estruturas dos adultos já estão formadas dentro da cutícula pupal (SHOUR; SPARKS, 1981).

Os surtos de *C. includens* parecem ser maiores em agroecossistemas onde a soja e o algodão são cultivados próximos. Estudos realizados no Estado da Louisiana (EUA), constataram um aumento na longevidade, oviposição e frequência de cópulas, quando foi fornecido o néctar das flores de algodoeiro para adultos de *C. includens*. Isso em parte pode explicar o maior índice populacional de *C. includens* em soja, quando existe área de algodão nas proximidades (JENSEN; NEWSON; GIBBENS, 1974). Situação semelhante pode ocorrer no Brasil Central, em áreas agrícolas onde ocorrem a sucessão de culturas com constante sobreposição de áreas de cultivo envolvendo culturas de soja e algodoeiro (BERNARDI, 2012). No Brasil, segundo Moscardi et al. (2012), surtos de *C. includens* são detectados com frequência no Oeste da Bahia, e em Estados como Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul.

### **2.3 Plantas geneticamente modificadas resistentes à insetos**

A importância socioeconômica do algodoeiro atrela-se à questão do controle de insetos, considerados praga, como sendo um dos fatores que traz a maior parcela de custos na produção dessa cultura. Como um dos maiores causadores de prejuízos, os lepidópteros se destacam por promoverem danos diretos e indiretos ao algodoeiro (CUNHA, 2011).

De modo geral, o controle da lagarta-falsa-medideira da soja é realizado por meio de aplicação de inseticidas. A utilização de plantas transgênicas com resistência

a insetos pode reduzir a necessidade de aplicação desses agrotóxicos, com consequente redução dos custos de produção (BESPALHOK FILHO; GUERRA; OLIVEIRA, 2012).

Nos Estados Unidos, geralmente, são realizadas de 5 a 12 aplicações de inseticidas no decorrer da safra em algodão convencional, e com o uso de algodão transgênico, o número de aplicações reduz para 1 a 3 aplicações (DAVIS et al., 1995; BACHELER; MOTT; MORRISON, 1997).

Plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos representam um novo método de controle de insetos-praga para programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) em diversos agroecossistemas. A utilização de plantas geneticamente modificadas (GM) contendo genes oriundos da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) que codificam proteína com ação inseticida, visando a proteção completa da planta ao longo do seu desenvolvimento contra espécies de lepidópteros e coleópteros, tem obtido grande destaque no cenário agrícola mundial (JAMES, 2009).

Esta bactéria durante o seu processo de esporulação, produz inclusões cristalinas que são pró-toxinas chamadas de  $\delta$ -endotoxina que causam lesões no aparelho digestivo dos insetos (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). Os cristais de *B. thuringiensis*, ao serem ingeridos pelas lagartas suscetíveis, sofrem ação do pH intestinal e de proteases, que solubilizam o cristal e ativam as toxinas (MONNERAT; BRAVO, 2000). Essas lesões causam desbalanceamento iônico no interior da célula, causando "lise" do epitélio intestinal e morte do inseto pela desnutrição do mesmo seguida de septicemia (SOUSA et al., 2010). No entanto, Monnerat e Bravo (2000) constataram que não há atividade de *B. thuringiensis* nas fases de pupa e de adulto dos insetos.

As pesquisas com algodão transgênico à base de Bt iniciaram-se em 1986 nos Estados Unidos, sendo que as primeiras plantas geneticamente modificadas foram obtidas em 1989. Naquele país, a liberação para comercialização da primeira cultivar transgênica só ocorreu em 1996. No Brasil, a liberação comercial da cultivar Bollgard I<sup>®</sup> da Monsanto Brasil Ltda., denominada comercialmente de NuOPAL, só ocorreu em março de 2005 de acordo com o Parecer Técnico Conclusivo, CTNBIO N<sup>o</sup> 513/2005 (BARROSO et al., 2005)

Plantas transgênicas resistentes aos insetos praga são produzidas com a finalidade de mata-los ou influir negativamente na sua biologia, por exemplo, interferindo na capacidade de voos, cópula e fecundidade (WRIGHT; VERKERK, 1995). Em trabalho realizado por Costa et al. (2011), foi observado redução significativa do número de lagartas de *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) em plantas da cultivar NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) de algodoeiro, comparada à sua isolinha DeltaOPAL.

Os insetos-pragas que sobrevivem ao consumo dessas toxinas são geralmente menores e podem ter desenvolvimento e fecundidade reduzidas (DOWN et al., 1996). Funichello et al. (2013) avaliaram o efeito da cultivar Bt NuOPAL e não Bt DeltaOPAL, sobre *C. includens* e observaram que as lagartas alimentadas com folhas da cultivar transgênica apresentaram significativamente maior duração média da fase larval, menor massa média corporal aos 12 dias e menor viabilidade larval do que as lagartas alimentadas com folhas da isolinha convencional.

Polanía et al. (2008) avaliaram a suscetibilidade de quatro noctuídeos à toxina Cry1Ac presente em plantas de algodoeiro NuOPAL e, observaram que a CL<sub>50</sub> necessária para causar mortalidade de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) foi maior do que para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), destacando que o efeito da toxina sobre *S. frugiperda* é reduzido, quando comparado a outros lepidópteros.

O uso de variedades transgênicas visa reduzir a aplicação de inseticidas sintéticos, o que gera benefícios como a redução da poluição por resíduos tóxicos no ambiente, segurança do trabalhador e conservação ou incremento dos agentes de controle biológico natural (CAPALBO; FONTES 2004). Por outro lado, impactos potenciais negativos podem ocorrer devido ao plantio em larga escala desse tipo de planta, como a redução de inimigos naturais e outras espécies benéficas, aumento de pragas não-alvo, evolução da resistência da praga em relação ao produto do transgene e fluxo do transgene de cultivos transgênicos para plantas geneticamente relacionadas (BUSOLI, 2000; FERRY et al., 2006).

As cultivares geneticamente modificadas de algodoeiro, com apenas a expressão da proteína tóxica Cry1Ac, não são consideradas eficientes contra algumas espécies de lepidópteros, todavia podem atuar de forma supressiva proporcionando prolongamento da fase larval e menor peso das lagartas (STEWART et al., 2001).



Para atender esta demanda, foram produzidas novos eventos Bt para o algodoeiro, que atendessem a um maior espectro de lepidópteros pragas da cultura (FUNICHELLO, 2012).

A adoção de culturas Bt tende a aumentar com a aprovação de vários eventos em diferentes culturas no Brasil, incluindo a soja Bt que também expressa a proteína Cry1Ac (CTNBio, 2010) e, portanto, pode ser esperado o aumento do potencial para a evolução da resistência.

A primeira geração de plantas Bt foi composta por plantas que expressam uma única toxina. No entanto, a segunda geração consiste de plantas que expressam duas ou mais proteínas com ação inseticida, sendo essas denominadas plantas Bt “piramidadas” (BERNARDI et al., 2011). Nesse sentido, a cultivar WideStrike® que expressa as endotoxinas Cry1Ac e Cry1F foi liberada pela CTNBio para plantio no Brasil a partir de 2009 (CTNBio, 2012). Essa cultivar possui um amplo espectro de controle de lepidópteros praga, entre os quais inclui a espécie *C. includens* (GREENBERG; LI; LIU, 2010; ARMSTRONG et al., 2011).

A ação inseticida das proteínas Cry1Ac e Cry1F para *C. includens* é menos conhecida e parece que a atividade da proteína Cry1F é maior que a proteína Cry1Ac. Com relação à toxicologia, as proteínas Cry1Ac e Cry1F podem compartilhar o mesmo sítio de ação na epiderme do trato digestivo de espécies de lepidópteros da Família Noctuidae (SORGATTO, 2013).

Em condições de campo, a resistência de populações de lagartas às proteínas de Bt pode ser definida como uma diminuição geneticamente mediada na suscetibilidade do organismo-alvo à proteína, mediante a exposição da população às culturas Bt (TABASHNIK, 1994; TABASHNIK et al., 2008).

As plantas Bt “piramidadas” retardam a evolução da resistência mais eficientemente que plantas que expressam uma única proteína inseticida, principalmente devido à baixa frequência inicial dos indivíduos resistentes às múltiplas toxinas (FERRÉ; VAN RIE, 2002).

Essa estratégia é baseada no conceito de que a resistência para duas proteínas é conferida independentemente por diferentes genes. Assim, o tempo que levaria para determinada praga evoluir resistência a determinada proteína expressa na planta Bt é o produto do número de gerações que a praga levaria para evoluir a resistência a cada

proteína, separadamente. Por exemplo, se o tempo que uma praga levaria para evoluir a resistência a proteína A for de 20 gerações e para proteína B de 30 gerações, essa praga pode levar 600 gerações para evoluir a resistência para ambas as proteínas (ANDOW, 2008).

Entretanto, para que uma planta Bt seja considerada variedade “piramidada”, as combinações de proteínas inseticidas expressas devem ser tóxicas para a mesma praga-alvo, pois, caso contrário, a planta seria dita “estaqueada”, que em outras palavras significa dizer que as proteínas inseticidas atuam independentemente, ou seja, não agem sobre a mesma praga-alvo para fins de manejo de resistência funcionariam como plantas que expressam apenas uma proteína, visto os alvos serem distintos. Por exemplo, as proteínas Cry1Ac/Cry1F expressas em algodão Widestrike®, Cry1F é tóxica para *S. frugiperda*, mas a proteína Cry1Ac não é tóxica para essa espécie. No entanto, ambas as proteínas são tóxicas para *H. virescens*. Dessa forma, a combinação das proteínas Cry1Ac/Cry1F é uma variedade “piramidada” para *H. virescens* e “estaqueada” para *S. frugiperda* (BERNARDI et al., 2011).

Sendo assim, o Manejo de Resistência de Insetos (MRI) no algodão Bt é de extrema importância no Brasil a fim de retardar a evolução da resistência dos insetos-alvos e prolongar a vida útil das proteínas inseticidas, que de acordo com Maia (2010), é um dos principais riscos ambientais associados às culturas transgênicas.

Desse modo, estratégias para retardar a seleção de indivíduos resistentes a plantas Bt têm sido propostas, tais como refúgio, plantas de alta dose e pirâmide de genes (GOULD, 1988; McGAUGHEY; WHALON, 1992). Este fato tem levado vários países à preocupação de se acompanhar o impacto de cultivares transgênicas sobre a entomofauna do algodoeiro (RAMIRO; FARIA, 2006).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição do local e do cultivo

Os experimentos foram realizados em área experimental da Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção (FEPP), localizada no Município de Jaboticabal, SP, na latitude 21°14'15"S e longitude 48°17'09"W, a 615 m de altitude, e no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LAMIP), do Departamento de Fitossanidade na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

Os experimentos foram conduzidos entre Novembro de 2012 e Junho de 2013, em uma área de 5.400m<sup>2</sup>, onde foram semeadas as cultivares transgênicas NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>) que expressa a proteína Cry1Ac e, FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>), que expressa a proteína Cry1Ac e Cry1F, e suas respectivas isolinhas convencionais, DeltaOPAL e FM 993, destinadas ao cultivo e desenvolvimento das plantas e às coletas de folhas para a realização dos experimentos em laboratório. A cultivar FMT 701, também foi semeada destinada à coleta de folhas para a manutenção da criação estoque de lagartas de *C. includens*. A escolha desta cultivar teve como objetivo evitar possível condicionamento pré-imaginal nos testes subsequentes com as demais cultivares, obedecendo critérios sugeridos por Lara (1991).

As práticas culturais, tais como adubação de plantio e cobertura, aplicação de regulador de crescimento vegetal foram os normalmente recomendados para a cultura do algodoeiro, assim como espaçamento entre linhas de plantas foi de 0,9 m. Durante o experimento não houve aplicações de inseticidas ou fungicidas, e o controle de plantas daninhas foi realizado manualmente durante o desenvolvimento das plantas de algodão.

### 3.2 Criação de manutenção de *C. includens*

As criações e os bioensaios foram mantidos sob condições controladas, em sala climatizada com temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa do ar de  $65\pm 5\%$  UR e fotofase de 14h.

Para obtenção dos materiais biológicos de *C. includens* utilizados para iniciar a criação em laboratório, foram coletadas lagartas de vários tamanhos nas plantas de soja e de algodão em áreas agrícolas no município de Chapadão do Sul, MS, Brasil.

Exemplares adultos foram identificados através de comparação com espécies do museu científico do Departamento de Fitossanidade, da FCAV/UNESP.

Em laboratório, o material originário do campo foi triado e acondicionado em recipientes cilíndrico de plástico com tampa com dimensões de 12 cm de diâmetro x 10 cm de altura, onde foram oferecidas folhas de algodão convencional FMT 701. As folhas foram trocadas diariamente até as lagartas atingirem a fase de pupa, onde foram separadas por sexo, utilizando-se a metodologia proposta por Butt e Cantu (1962).

Assim que emergidos, os adultos foram acondicionados em gaiolas constituídas por tubos de PVC de 15 cm de diâmetro x 20 cm de altura, cuja parte superior foram cobertas por tecido "voile" fixado por elásticos. Internamente as gaiolas foram revestidas com papel sulfite para as fêmeas realizarem as posturas dos ovos e posterior coleta dos mesmos para a realização dos estudos ou para a criação da espécie (Figura 1).

Para a alimentação dos adultos, solução de mel a 10% embebida em chumaço de algodão hidrófilo, foi oferecido e colocado no fundo da gaiola, em um recipiente cilíndrico plástico de 3 cm de diâmetro x 2 cm de altura.

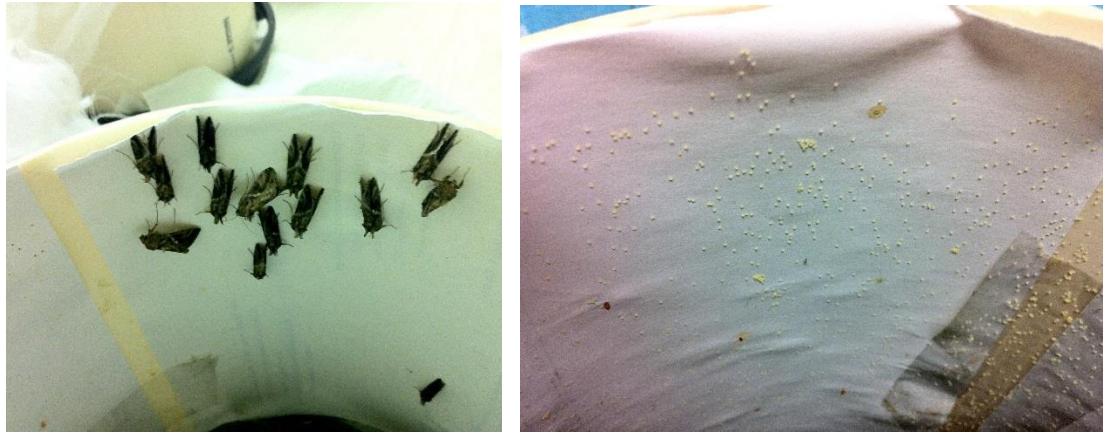


Figura 1. Tubos de PVC utilizados para criação estoque de *Chrysodeixis includens* (à esquerda) e folhas de papel sulfite para obtenção de ovos (à direita). Jaboticabal – SP, 2013.

A cada 24 horas, as gaiolas foram trocadas e os ovos obtidos foram acondicionados em placas de Petri com papel filtro ao fundo, e umedecido com água para evitar a dessecação dos ovos. Após a eclosão das lagartas, estas foram transferidas para os tubos de PVC, onde foram fornecidas para alimentação, folhas de algodoeiro da cultivar FMT 701. As folhas foram previamente imersas em solução de hipoclorito de sódio e água (1:10) por dez minutos, sendo posteriormente enxaguadas com água abundante e secas naturalmente ao ambiente. As folhas foram trocadas diariamente, de modo a não haver falta de alimento e foi realizada a higienização e remoção de fezes até as lagartas atingirem o estágio de pupa.

### **3.3 Parâmetros biológicos de *C. includens* criadas em duas cultivares transgênicas e em suas respectivas isolinhas convencionais de algodoeiro**

Para a obtenção dos parâmetros biológicos do inseto, foram utilizadas lagartas neonatas (recém eclodidas) provenientes da criação de manutenção de *C. includens* na cultivar FMT 701. O experimento foi constituído por 4 tratamentos, representadas pelas cultivares de algodoeiro transgênicas NuOPAL (Bollgard I<sup>®</sup>), que expressa a proteína Cry1Ac, e FM 975 (WideStrike<sup>®</sup>), que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F, e suas respectivas isolinhas convencionais, DeltaOPAL e FM 993.

### 3.3.1 Fase larval e pupal

Para a avaliação dos parâmetros biológicos referentes à fase larval, utilizaram-se para cada cultivar (tratamento) 100 lagartas neonatas (repetições) onde foram individualizadas em recipientes plásticos de 6 cm de diâmetro x 5 cm de altura, com capacidade de 145 ml, onde foi realizada observações diárias (Figura 2).

As folhas utilizadas para alimentação larval foram coletadas no campo em cada área respectiva da cultivar (tratamento) e sempre no terço médio. As folhas foram trocadas diariamente, de modo a não haver falta de alimento e foi realizada a higienização e remoção de fezes até as lagartas atingirem o estágio de pupa. Em seguida, as pupas foram pesadas e separadas por sexo, baseado em Butt e Cantu (1962) e observadas até a emergência dos adultos.



Figura 2. Recipientes plásticos contendo folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas utilizados para estudos biológicos de *Chrysodeixis includens* nas fases larval e de pupa. Jaboticabal - SP, 2013.

Os parâmetros biológicos observados foram: duração média e viabilidade da fase larval, duração média e viabilidade da fase de pupa, peso médio de lagartas aos 13 dias de idade e de pupas com 24 horas de formação, razão sexual e duração do período de lagarta a adulto. A pesagem das lagartas e pupas foram realizadas com o auxílio de uma balança de precisão de quatro casas decimais (Figura 3) e a razão sexual foi obtida através da fórmula:  $rs = \frac{n^\circ \text{ de fêmeas}}{n^\circ \text{ de fêmeas} + n^\circ \text{ de machos}}$ .



Figura 3. Balança de precisão com quatro casas decimais utilizada para pesagem das lagartas e pupas de *Chrysodeixis includens*. Jaboticabal – SP, 2013.

### 3.3.2 Fase adulta

Para a avaliação dos parâmetros biológicos referentes à fase adulta, utilizaram-se para cada cultivar (tratamento) o número máximo de casais (repetições) onde foram individualizados em gaiolas cilíndrica constituída por tubos de PVC de 10 cm de diâmetro x 20 cm de altura, onde na parte superior foram cobertas por tecido “voile” fixado por elásticos. Internamente as gaiolas foram revestidas por papel sulfite branco para as fêmeas realizarem a postura dos ovos e facilitando com isso a posterior coleta diária dos mesmos para a realização das avaliações (Figura 4).



Figura 4. Aspecto geral para estudos biológicos de *Chrysodeixis includens* na fase adulta. Jaboticabal – SP, 2013.

As coletas foram realizadas diariamente para contagem de ovos de cada casal. Para alimentação dos adultos foram oferecidos solução de mel a 10% embebida em chumaço de algodão hidrófilo e colocado no fundo da gaiola, em um recipiente cilíndrico plástico de 3 cm de diâmetro x 2 cm de altura e ainda foram colocadas dentro da gaiola 2 folhas de algodoeiro de cada cultivar (tratamento) para indução de oviposição. Os parâmetros biológicos analisados foram: período de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição, número médio total de ovos/fêmea, viabilidade de ovos e longevidade de machos e fêmeas.

### **3.4 Delineamento e análise estatística**

Os dados obtidos nos bioensaios foram analisados estatisticamente através de Análise de Variância (ANOVA), teste F, e as médias dos tratamentos, comparadas pelo Teste de Tukey a nível de 5% de significância. Para a análise estatística, foi utilizado o programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2013) e os dados biológicos originais de médias de peso na fase larval e de pupa foram transformados de acordo com a Lei de Taylor, em  $\sqrt{x+0,5}$ , para melhor aproximação das médias dos tratamentos em torno da média geral.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A duração média dos estádios larvais de *C. includens* variou significativamente entre as cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e suas isolinhas (Tabela 1).

As lagartas que foram alimentadas com a cultivar transgênica de algodoeiro WideStrike® apresentaram mortalidade de 100% até o segundo dia de idade das lagartas, logo no 1º ínstar, não sendo possível realizar as análises comparativas com os parâmetros biológicos obtidos nas demais cultivares. Assim, observa-se que a cultivar WideStrike® foi altamente eficiente para o controle de *C. includens*, conferida pelas proteínas tóxicas Cry1Ac e principalmente Cry1F (Tabela 1). Esses resultados corroboram aos encontrados por Tindall et al. (2009) nos EUA, que também observaram mortalidade total das lagartas *C. includens* alimentadas com folhas de algodoeiro que apresentam proteínas Cry1Ac e Cry1F.

Por outro lado, a duração do 1º e 2º ínstars larvais das lagartas alimentadas na cultivar transgênica NuOPAL foi de 4,82 e 3,34 dias, respectivamente, sendo significativamente maior que a duração das lagartas alimentadas com as cultivares não transgênicas DeltaOPAL e FM 993 (Tabela 1). No entanto, para a duração do 3º ínstar larval, não observou-se diferença significativa entre as cultivares (Tabela 1).

Em relação ao 4º ínstar larval, observou-se que a duração média deste ínstar, na cultivar DeltaOPAL foi de 2,99 dias, sendo significativamente maior que a duração média das lagartas alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL, que apresentou duração média de 2,68 dias. As lagartas que se alimentaram com a cultivar não transgênica FM 993 apresentaram duração média de 2,88 dias, sendo mais próxima da cultivar DeltaOPAL (Tabela 1).

No último e 5º ínstar larval observou-se que a duração média das lagartas na cultivar FM 993 foi de 3,40 dias, sendo significativamente maior quando comparada à duração média das lagartas alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL, correspondendo a 3,02 dias, e não diferindo das lagartas alimentadas com a cultivar não transgênica DeltaOPAL (Tabela 1).

**Tabela 1.** Duração média  $\pm$  EP (dias) dos estádios larvais de *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivar	Fase Larval					
	1º Instar	2º Instar	3º Instar	4º Instar	5º Instar	Pré pupa
<b>NuOPAL (Bollgard I®)</b>	4,82 $\pm$ 0,09 a [62]	3,34 $\pm$ 0,10 a [62]	2,95 $\pm$ 0,11 a [62]	2,68 $\pm$ 0,08 b [62]	3,02 $\pm$ 0,08 b [62]	1,69 $\pm$ 0,06 ab [62]
<b>DeltaOPAL</b>	4,47 $\pm$ 0,07 b [71]	3,01 $\pm$ 0,07 b [71]	2,89 $\pm$ 0,10 a [71]	2,99 $\pm$ 0,01 a [71]	3,27 $\pm$ 0,08 ab [71]	1,75 $\pm$ 0,05 a [71]
<b>FM 975 (WideStrike®)<sup>2</sup></b>	--	--	--	--	--	--
<b>FM 993</b>	4,29 $\pm$ 0,06 b [86]	3,00 $\pm$ 0,07 b [86]	3,15 $\pm$ 0,07 a [86]	2,88 $\pm$ 0,08 ab [86]	3,40 $\pm$ 0,08 a [86]	1,55 $\pm$ 0,14 b [86]
<b>Média</b>	4,50	3,10	3,01	2,89	3,25	1,65
<b>Teste F</b>	13,50**	4,97**	2,36 <sup>ns</sup>	3,03*	5,46**	3,53*
<b>CV (%)</b>	13,74	22,69	26,47	25,57	21,32	29,66

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; \* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1% de probabilidade. <sup>2</sup>Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar. Valores que estão entre colchetes correspondem ao número de indivíduos [n].

Durante a fase de pré-pupa, quando cessa a alimentação, as lagartas que alimentaram-se da cultivar não transgênica DeltaOPAL apresentaram maior duração média, porém não diferindo significativamente dos resultados apresentados pela cultivar transgênica NuOPAL. Entretanto, diferiu significativamente das lagartas que foram alimentadas com a cultivar FM 993 (Tabela 1). Em experimentos realizados com outro noctuídeo, *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858), Araújo (2009) verificou resultados similares para as cultivares NuOPAL e DeltaOPAL, onde também não diferiram significativamente no período de pré-pupa.

No geral, ao observar a duração média de toda a fase larval, as lagartas alimentadas com a cultivar NuOPAL e que sobreviveram, apresentaram duração média de 19,04 dias, não apresentando diferenças significativas comparadas com as cultivares não transgênicas DeltaOPAL e FM 993, que apresentaram duração média de 18,86 e 18,58 dias respectivamente (Tabela 2). Dessa forma, pode-se observar que a proteína tóxica Cry1Ac, expressa na cultivar transgênica NuOPAL, não afetou o período de duração da fase larval de *C. includens* (Tabela 2).

Estes resultados da duração da fase larval obtidos nas cultivares NuOPAL e DeltaOPAL foram menores que os resultados encontrados por Funichello et al. (2013), que observaram aumento da duração do período larval de *C. includens* quando os insetos foram alimentados com a cultivar de algodoeiro transgênica NuOPAL, com média de 22,23 dias. Como os experimentos foram realizados no ano de 2011, ou seja, dois anos antes dos resultados aqui apresentados, é possível supor que a espécie em questão, possa estar sofrendo seleção para resistência à proteína Cry1Ac presente na cultivar NuOPAL.

Adamczyk e Gore (2004), em ensaio de laboratório e campo nos EUA, testaram cultivares de algodoeiro que expressavam diferentes proteínas tóxicas, como Cry1Ac, Cry1F e ambas as proteínas para controle de *S. frugiperda* e *S. exíqua*, e verificaram que aquelas que continham somente a proteína Cry1F foram mais eficientes que as cultivares que expressavam Cry1Ac e Cry1Ac mais Cry1F. Segundo Sorgatto (2013), isso ocorre porque as proteínas Cry1Ac e Cry1F, podem compartilhar o mesmo sítio de ação nas células da epiderme do trato digestivo de lagartas de noctuídeos, e como a proteína Cry1Ac é menos eficiente que a Cry1F para algumas espécies, estes resultados ocorrem com mais frequência.

Em relação a viabilidade da fase larval das lagartas alimentadas com as diferentes cultivares de algodoeiro, constatou-se que a cultivar não transgênica FM 993 proporcionou maior sobrevivência às lagartas com 86%, diferindo significativamente das demais cultivares que apresentaram viabilidade com cerca de 62% obtidos na cultivar transgênica NuOPAL e 71% de sobrevivência para as lagartas alimentadas com sua isolinha convencional DeltaOPAL (Tabela 2).

O efeito da cultivar no comportamento e biologia dos insetos-praga é importante para o desenvolvimento de estratégias eficientes dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas, procurando-se manejar populações que sobrevivem à tecnologia. Nesse sentido, Santos e Torres (2010) avaliaram a eficácia do algodão Bt Bollgard® (Acala 90B) no controle de *S. frugiperda* e *A. argillacea*, e concluíram que a proteína Cry1Ac não possui ação supressiva sobre *S. frugiperda* exibindo mortalidade similar a sua isolinha não-Bt, mas é eficaz no controle de *A. argillacea*. Costa et al. (2011) também verificaram alta mortalidade de lagartas de 1º e 2º instares de *A. argillacea* alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL, que expressa a proteína Cry1Ac, porém segundo Funichello et al. (2013), essa toxina não vem causando supressão de algumas populações de lagartas de *C. includens* em algodão no Centro Oeste do Brasil. Resultados semelhantes foram observados para *C. includens* no presente trabalho, onde o efeito da cultivar transgênica NuOPAL (Bollgard I®) controlou somente 38% da população de lagartas (Tabela 1).

A seleção de populações de insetos resistentes em condições de laboratório tem mostrado uma rápida resposta de insetos-praga à pressão de seleção com proteínas Bt, o que evidencia o potencial de evolução da resistência em condições de campo (ALI; LUTTRELL; YOUNG, 2006; TABASHNIK et al., 2008). Essa resistência já foi verificada por Akin et al. (2011), onde observaram que em condições de campo, não houve diferença na ocorrência de *C. includens* em algodão convencional e em algodão que expressa a proteína Cry1Ac.

Com relação ao peso médio das lagartas que estavam vivas aos 13 dias de idade, não foi observado diferenças significativas entre as lagartas alimentadas com as cultivares avaliadas (Tabela 2). Estes resultados discordam dos obtidos por Funichello et al. (2013), que verificaram que a cultivar FM 993 proporcionou maior

média de peso para lagartas aos 12 dias de idade em relação às cultivares transgênicas NuOPAL e sua isolinha convencional DeltaOPAL.

**Tabela 2.** Duração média  $\pm$  EP (dias) e viabilidade média (%) da fase larval, peso médio  $\pm$  EP (g) de lagartas aos 13 dias de idade e duração média  $\pm$  EP (dias) do período lagarta - adulto de *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivar	Fase Larval			Duração
	Duração (m $\pm$ EP)	Viab. (%)	Peso (g) (m $\pm$ EP) <sup>1</sup>	Lagarta – Adulto (m $\pm$ EP)
NuOPAL (Bollgard I <sup>®</sup> )	19,04 $\pm$ 0,22 a [62]	62 b	0,1288 $\pm$ 0,010 a [62]	38,03 $\pm$ 0,07 ab [36]
DeltaOPAL	18,86 $\pm$ 0,16 a [71]	71 b	0,1384 $\pm$ 0,008 a [71]	38,86 $\pm$ 0,05 a [44]
FM 975 (WideStrike <sup>®</sup> ) <sup>2</sup>	--	--	--	--
FM 993	18,58 $\pm$ 0,14 a [86]	86 a	0,1477 $\pm$ 0,010 a [86]	37,55 $\pm$ 0,05 b [40]
<b>Média</b>	18,80	73,00	0,1383	38,18
<b>Teste F</b>	1,94 <sup>ns</sup>	7,77**	1,06 <sup>ns</sup>	3,81*
<b>CV (%)</b>	7,71	59,58	5,65	5,79

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; \* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1% de probabilidade. <sup>1</sup>Os dados de peso na fase larval foram transformados  $\sqrt{(x+0,5)}$ . <sup>2</sup> Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1° instar. Valores que estão entre colchetes correspondem ao número de indivíduos [n].

A duração média do período lagarta-adulto de *C. includens* variou de 37,55 a 38,86 dias, sendo a duração média significativamente mais longa para as lagartas alimentadas com a cultivar não transgênica DeltaOPAL em comparação com a cultivar não transgênica FM 993 (Tabela 2). Esses resultados foram maiores que os obtidos por Mitchell (1967), o qual verificou que a duração do período lagarta-adulto de *C. includens* alimentadas com folhas de soja e de algodão variou de 26,5 a 31,7 dias, respectivamente. No presente trabalho, este parâmetro não foi estatisticamente diferente entre as cultivares Bt e não Bt, verificando que a cultivar transgênica NuOPAL não prolongou o período lagarta-adulto.

Ao observar o período de duração da fase de pupa, constatou-se que as lagartas que se alimentaram da cultivar não transgênica DeltaOPAL foram as que apresentaram maior duração média com 7,28 dias, diferindo significativamente das lagartas que se alimentaram da cultivar não transgênica FM 993, que apresentaram menor duração média 6,95 dias, enquanto que as lagartas alimentadas com folhas da cultivar transgênica NuOPAL apresentaram duração média mais próxima da sua

isolinha comercial (Tabela 3). Verificou-se também que a viabilidade pupal não apresentou diferenças significativas entre as cultivares, onde as lagartas que foram alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL apresentaram viabilidade de 97%, seguido de 98% para sua isolinha convencional DeltaOPAL e 100% de sobrevivência para a cultivar não transgênica FM 993 (Tabela 3).

Considerando-se outro parâmetro biológico, a razão sexual apresentou diferença significativa entre as cultivares, sendo 0,61 na cultivar transgênica NuOPAL e 0,42 na sua isolinha DeltaOPAL, onde na cultivar transgênica se distanciou mais da proporção entre os sexos, que é em torno de 1:1, apresentando com isso maior número de fêmeas. Na cultivar convencional FM 993 a razão sexual foi de 0,43 (Tabela 3).

**Tabela 3.** Duração média  $\pm$  EP (dias) e viabilidade média (%) da fase de pupa, razão sexual e peso médio  $\pm$  EP (g) de pupas com 24 horas de *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivar	Fase de Pupa			
	Duração (m $\pm$ EP)	Viab. (%)	Razão Sexual	Peso (g) (m $\pm$ EP) <sup>1</sup>
NuOPAL (Bollgard I <sup>®</sup> )	7,14 $\pm$ 0,07 ab [62]	97	0,61 a [62]	0,2595 $\pm$ 0,004 b [62]
DeltaOPAL	7,28 $\pm$ 0,06 a [71]	98	0,42 b [71]	0,2686 $\pm$ 0,003 ab [71]
FM 975 (WideStrike <sup>®</sup> ) <sup>2</sup>	--	--	--	--
FM 993	6,95 $\pm$ 0,08 b [86]	100	0,43 b [86]	0,2759 $\pm$ 0,003 a [86]
Média	7,10	98,60	0,49	0,2678
Teste F	5,84**	1,39 <sup>ns</sup>	3,72*	5,86**
CV (%)	8,20	11,79	102,22	9,78

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; \* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1% de probabilidade.

<sup>1</sup>Os dados de peso na fase de pupa foram transformados  $\sqrt{(x+0,5)}$ . <sup>2</sup>Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1° instar. Valores que estão entre colchetes correspondem ao número de indivíduos [n].

Em relação ao peso médio de pupas com 24 horas de formação, foi constatado diferença significativa influenciada pelas cultivares, onde as lagartas que foram alimentadas com a cultivar transgênica NuOPAL apresentaram significativamente menor média de peso, enquanto que as lagartas alimentadas com a cultivar não transgênica FM 993 apresentaram maior média de peso e as lagartas que alimentaram-se da cultivar isolinha DeltaOPAL apresentaram peso semelhante à cultivar transgênica NuOPAL (Tabela 3). Esses resultados corroboram os obtidos por

Funichello et al. (2013), que constataram que a proteína tóxica Cry1Ac afetou o peso de pupas com 24 horas de idade, provavelmente pela influência negativa no comportamento de alimentação as lagartas refletindo em pupas de menor peso, apesar de apresentarem altos índices de viabilidade ou sobrevivência.

Sayyed et al. (2003) hipotetizaram que a toxina inseticida de Bt produzida por culturas transgênicas poderia ter efeitos nutricionais favoráveis, que aumentariam a capacidade de consumo dessas culturas por insetos resistentes. Essa ideia foi baseada no aumento do peso pupal de larvas resistentes de *Plutella xylostella* (L.) alimentadas com discos de folhas tratadas externamente com a toxina Bt. No entanto, outros estudos indicam que as culturas Bt tiveram efeitos adversos sobre insetos resistentes (TABASHNIK; CARRIERE, 2004).

Os resultados obtidos para o período de pré-oviposição das fêmeas, indicam que as mariposas que passaram a fase larval alimentando-se com a cultivar transgênica NuOPAL tiveram período de 3,72 dias, não diferindo significativamente do período da sua isolinha convencional DeltaOPAL, com 3,27 dias. As mariposas que passaram a fase larval alimentando-se na cultivar convencional FM 993 apresentaram significativamente menor período de pré-oviposição, com 2,45 dias (Tabela 4).

**Tabela 4.** Duração média  $\pm$  EP (dias) dos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição de *Chrysodeixis includens* alimentadas na fase larval com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivar	Fase Adulta		
	Pré-Oviposição (m $\pm$ EP)	Oviposição (m $\pm$ EP)	Pós-oviposição (m $\pm$ EP)
NuOPAL (Bollgard I <sup>®</sup> )	3,72 $\pm$ 0,07 a [18]	7,89 $\pm$ 0,09 a [18]	0,28 $\pm$ 0,04 a [18]
DeltaOPAL	3,27 $\pm$ 0,04 a [22]	8,13 $\pm$ 0,07 a [22]	1,00 $\pm$ 0,06 a [22]
FM 975 (WideStrike <sup>®</sup> ) <sup>2</sup>	--	--	--
FM 993	2,45 $\pm$ 0,03 b [20]	8,25 $\pm$ 0,06 a [20]	0,90 $\pm$ 0,06 a [20]
<b>Média</b>	3,13	8,10	0,75
<b>Teste F</b>	8,62**	0,30 <sup>ns</sup>	2,21 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	30,75	18,07	153,36

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; \*\* Significativo a 1% de probabilidade. <sup>2</sup>Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1° instar. Valores que estão entre colchetes correspondem ao número de indivíduos [n].

Quando observado a duração dos períodos de oviposição e pós-oviposição, os resultados obtidos não diferiram significativamente entre as cultivares avaliadas. No entanto, os resultados indicam que os indivíduos alimentados na cultivar transgênica NuOPAL tiveram menor período de oviposição e pós-oviposição em relação aqueles alimentados nas cultivares DeltaOPAL e FM 993 (Tabela 4), portanto, menor longevidade da fase adulta.

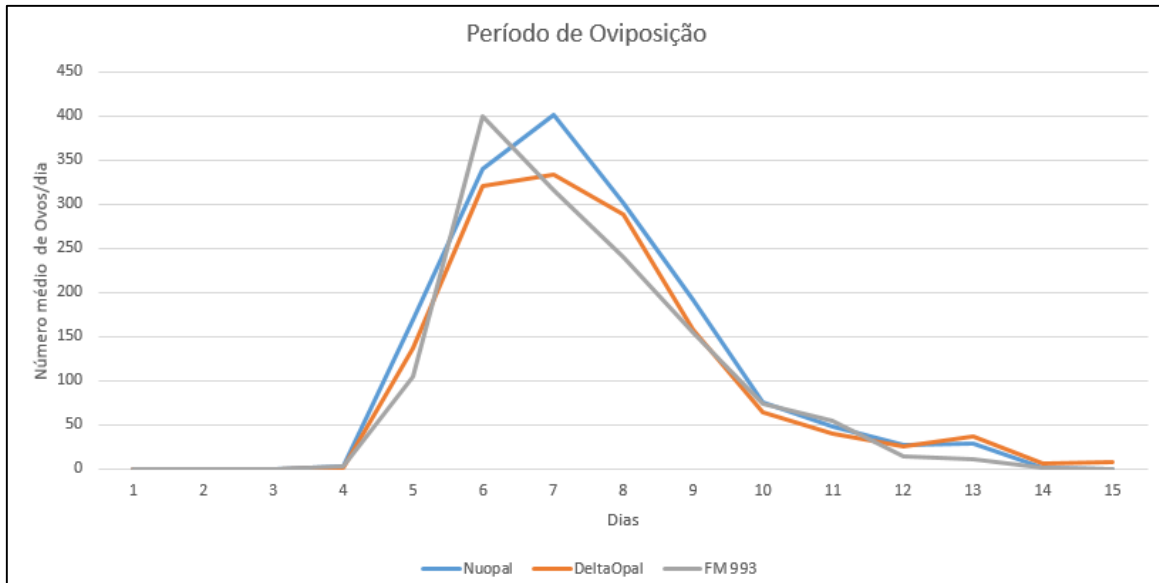
Para o parâmetro avaliado número médio de ovos por fêmea não observou-se diferenças significativas proporcionadas pelas cultivares avaliadas, onde variou de 1360 ovos para mariposas que passaram a fase larval alimentando-se da cultivar FM 993, seguido de 1384,68 ovos para a DeltaOPAL e 1554 ovos para a cultivar transgênica NuOPAL (Tabela 5).

Segundo Jost e Pitre (2002), em condições de temperatura e umidade favoráveis (usualmente em condições controladas de criações de laboratório), cada fêmea pode ovipositar, em média, 700 ovos durante seu ciclo de vida. Segundo Vázquez (1986) o número total médio de ovos pode variar de 144 a 1953 ovos, sendo que 80 a 90 % do total destes são ovipositados até o sétimo dia.

Observando-se os dados obtidos do número médio de ovos por dia de fêmeas de *C. includens* nas cultivares avaliadas, verificou-se os maiores picos de oviposição entre o sexto e oitavo dia de vida das fêmeas, com números médios diários em torno de 300 a 400 ovos (Figura 5).

Para as fêmeas cujas lagartas se desenvolveram na cultivar transgênica NuOPAL e para sua isolinha convencional DeltaOPAL, observou-se picos de oviposição no sétimo dia. Entretanto o número médio de ovos/dia na cultivar Bt foi em torno de 400 ovos diferindo da sua isolinha não Bt, que apresentou número médio em torno de 340 ovos. Entretanto as fêmeas cujas lagartas se desenvolveram na cultivar não transgênica FM 993, observou-se que o pico de oviposição ocorreu no sexto dia, sendo o primeiro quando comparado com as demais cultivares avaliadas. Além disso, observa-se que o número médio de ovos por dia de *C. includens* na cultivar FM 993 aumentou em torno de 3 vezes do quinto para o sexto dia de oviposição, onde em seguida gradativamente foi diminuindo.





**Figura 5.** Número médio de ovos por dia de *Chrysodeixis includens* alimentadas com cultivares comerciais transgênicas e não transgênicas de algodoeiro. Jaboticabal/SP, 2013

Observando-se a viabilidade dos ovos, constata-se que não houve diferença significativa entre as cultivares, onde as porcentagens foram superiores a 80%. Nota-se pelos dados que as fêmeas cujas lagartas se desenvolveram na cultivar transgênica NuOPAL não foram afetadas (Tabela 5), apresentando indícios de resistência à proteína inseticida Cry1Ac presente nesta cultivar.

Quanto à longevidade dos adultos, verificou-se que não houve diferença significativa proporcionada pelas cultivares avaliadas. Observou-se que a longevidade dos machos variou entre 13,55 a 14,91 dias para mariposas que passaram a fase larval alimentando-se das cultivares convencionais FM 993 e DeltaOPAL, respectivamente (Tabela 5).

Em relação a cultivar transgênica NuOPAL, a longevidade média dos machos foi de 14,06 dias. Constatou-se que os machos foram mais longevos do que as fêmeas, onde a longevidade média das fêmeas variou entre 11,75 a 12,27 dias e também não diferiram significativamente entre as cultivares avaliadas (Tabela 5). Esses resultados corroboram os de Mitchell (1967), que constatou que a longevidade dos adultos é de aproximadamente 15 dias.

**Tabela 5.** Número médio  $\pm$  EP de ovos por fêmea, viabilidade de ovos (%) e longevidade média  $\pm$  EP (dias) de machos e fêmeas de *Chrysodeixis includens* alimentadas na fase larval com folhas de cultivares de algodoeiro comerciais transgênicas e não transgênicas. Jaboticabal/SP, 2013.

Cultivar	N° médio ovos/fêmea (m $\pm$ EP)	Viab. ovos (%)	Longevidade	
			Machos	Fêmeas
<b>NuOPAL (Bollgard I®)</b>	1554,00 $\pm$ 28,87 a [18]	85,21 a [18]	14,06 $\pm$ 0,13 a [18]	11,89 $\pm$ 0,06 a [18]
<b>DeltaOPAL</b>	1384,68 $\pm$ 22,35 a [22]	84,96 a [22]	14,91 $\pm$ 0,08 a [22]	12,27 $\pm$ 0,06 a [22]
<b>FM 975 (WideStrike®)<sup>2</sup></b>	--	--	--	--
<b>FM 993</b>	1360,00 $\pm$ 24,94 a [20]	84,03 a [20]	13,55 $\pm$ 0,09 a [20]	11,75 $\pm$ 0,08 a [20]
<b>Média</b>	1427,25	84,73	14,20	11,98
<b>Teste F</b>	0,92 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	2,56 <sup>ns</sup>	0,77 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	33,39	9,65	13,89	11,80

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>2</sup>Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar. Valores que estão entre colchetes correspondem ao número de indivíduos [n].

No presente estudo pode-se observar o baixo efeito da cultivar transgênica NuOPAL nos parâmetros biológicos de *C. includens*, mostrando a alta capacidade da praga de resistir à ação da proteína tóxica Cry1Ac presente nas plantas. Em contrapartida, a cultivar transgênica WideStrike®, que expressa a proteína tóxica Cry1F além da Cry1Ac, apresentou uma alta eficiência no controle de *C. includens*, porém se não houver o manejo correto da resistência, parte de populações de insetos poderão apresentar maiores médias de sobrevivência a cada geração e com isso proporcionar a resistência às proteínas inseticidas presentes nessas cultivares.

Desse modo, estratégias para retardar a seleção de indivíduos resistentes a Bt tem sido propostas, como utilização de plantas transgênicas de alta dose, uso de diferentes toxinas, a piramidação de genes e o uso de áreas de refúgio adequadas.

Além disso, é elevado o risco de populações de lagartas de *C. includens* não serem controladas pela toxina Cry1Ac expressa em variedades de algodão Bt e, mais recentemente, na variedade de soja Bt, visto que essa preocupação se deve à maior exposição de lagartas à mesma toxina de Bt, tanto em algodão quanto em soja (Cry1Ac), aumentando a pressão seletiva que favorece o predomínio de insetos resistentes a plantas que expressam a proteína Cry1Ac, podendo reduzir a vida útil de variedades de algodão e de soja que expressam esta toxina.

Portanto é importante uma discussão para o planejamento do manejo de populações de diferentes espécies de lagartas resistentes para maximizar os benefícios do algodão transgênico, prologando a vida útil das proteínas inseticidas e da tecnologia.

## 5. CONCLUSÕES

As proteínas Cry1Ac e principalmente Cry1F expressas na cultivar FM 975 (WideStrike®) afetam os parâmetros biológicos suprimindo de maneira eficiente as populações de *C. includens*;

A cultivar de algodoeiro transgênica NuOPAL (Bollgard I®) que expressa somente a proteína Cry1Ac, não apresenta eficiência na supressão de lagartas de *C. includens*, se comportando de modo similar a sua isolinha convencional DeltaOPAL;

A população de *C. includens* aumentou a tolerância à proteína tóxica Cry1Ac presente na cultivar de algodoeiro NuOPAL (Bollgard I®).

## 6. REFERÊNCIAS

ADAMCZYK, J. J.; GORE, J. Laboratory and field performance of cotton containing Cry1Ac, Cry1F and both Cry1Ac and Cry1F (Widestrike®) against beet armyworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist.**, Gainesville, v. 87, n. 4, p. 427-432, 2004.

AGOPA, 2009. Surubim receberá algodão colorido. Disponível em: <<http://www.truman.com.br/htm/noticias/noticias.php>>. Acesso em: Jun. 2013.

AKIN, D. S.; STEWART, S. D.; LAYTON, M. B.; MILLS, J. A. Efficacy of cotton expressing pyramided *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins against lepidopteran pests. **Midsouth Entomologist**, Starkville, v. 4, p. 1-13, 2011.

ALFORD, A. R.; HAMMOND JR., A. M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybean ecosystems as determined with loop lure-baited traps [*Pseudoplusia includens*, *Rachiplusia* ou, *Trichoplusia* spp.], **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 75, p. 647-650, 1982.

ALI, M. I.; LUTTRELL, R. G.; YOUNG, S. I. Suscetibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, p. 164-175, 2006.

ANDOW, D. A. The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. **Collection of Biosafety Reviews**, Trieste, v.4 p.142-199, 2008.

ANDRADE JUNIOR, E. R.; VILELA, P. A. Avaliação de inseticidas no controle de lagarta falsa-medideira no algodoeiro em Campo Verde-MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 7, 2009, Foz do Iguaçu. Sustentabilidade da cotonicultura brasileira e expansão dos mercados. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009.

ARAÚJO, C. R. **Aspectos biológicos de *Spodoptera cosmioides* Walker, 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) nas cultivares de algodoeiro DeltaOPAL e NuOPAL (Bollgard I).** 2009. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2009.

ARMSTRONG, J. S.; ADAMCZYK, J. J.; SHOIL, J.; GREENBERG, M. Efficacy of single and dual gene cotton *Gossypium hirsutum* events on neonate and third instar fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* development based on tissue and meridic diet assays. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.94 p. 262-271, 2011.

BACHELER, J. S., MOTT, D. W; MORRISON, D. E. Efficacy of grower-managed Bt cotton in North Carolina. In: **Beltwide Cotton Conferences**, 1997, Memphis. Proceedings... Memphis: National Cotton Council, 1997. p. 858 – 861.

BARROSO, P. A. V.; FREIRE, E. C. Fluxo gênico em algodão no Brasil. In: PIRES, C.S. S.; FONTES, E. M. G.; SUJII, E. R. (Ed.). **Impacto ecológico de plantas geneticamente modificadas**. Brasília: Embrapa, 2003. p. 163-193.

BARROSO, P. A. V.; FREIRE, E. C.; AMARAL, J. A. B.; SILVA, M. T. **Zonas de exclusão de algodoeiros transgênicos para preservação de espécies de *Gossypium* nativas ou naturalizadas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. Comunicado Técnico.

BERNARDI, O. **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 2012. 144f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BERNARDI, O. ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. Resistência de Insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. **Plantas geneticamente modificadas**. Viçosa - UFV, 2011. p.390.

BERRIE, M. M. A. **An introduction to the botany of the major crop plants**. London: Heyden, 1977. 220p.

BESPALHOK FILHO, J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. A. **Plantas transgênicas**. UFPR, 2012. Disponível em: <<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%20transgenicos.pdf>>. Acesso em: 15 de setembro de 2013.

BOTTIMER, L. J. Notes on some Lepidoptera from eastern Texas. **Journal Agricultural Research**, Lahore, v. 39, p. 797-819, 1926.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.38. n.3, p. 389-394, 2009.

BUENO, R. C. O. F., PARRA, J. R. P., BUENO, A. F., MOSCARDI, F., DI OLIVEIRA, J. R. G., CAMILLO, M. F. Sem Barreira. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v.93, p.12-15, 2007.

BUSOLI, A. C. Impacto ambiental de plantas transgênicas no controle biológico de pragas em ecossistemas agrícolas (mesa redonda). In: SIMPOSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIRO: CONSERVACAO, V., 2000. Vitoria, ES. **Anais...** Vitoria: UFES, 2000.

BUSOLI, A. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; FUNICHELLO, M.; NAIS, J.; SILVA, E. A. Atualidades no MIP algodão no cerrado brasileiro. In: BUSOLI, A. C.; FRAGA, D. F.; SANTOS, L. C.; ALENCAR, J. R. C. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; JANINE, J. C.; SOUZA, L. A.; VIANA, M. A.; FUNICHELLO, M. **Tópicos em Entomologia Agrícola IV**. Jaboticabal-SP: Gráfica Multipress Ltda., 2011. 117-138.

BUSOLI, A. C.; MICHELOTTO, M. D.; ROCHA, K. C. G. Controle biológico de pragas no MIP-algodoeiro no Cerrado Brasileiro. In: De BORTOLI, S. A.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; OLIVEIRA, J. E. M. (Ed.). **Agentes de controle biológico – metodologias de criação, multiplicação e uso**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 330-353.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of Lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7p.

CAPALBO, D. M. F.; FONTES, E. M. G. **GMO Guidelines Project**. 56p. Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 38. 2004. Disponível em: [http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos\\_38.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_38.pdf)>. Acesso em: 22 de maio de 2013.

CARVALHO, P. P. 1996. **Manual do algodoeiro**. Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, 282p.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento**, agosto 2013/Companhia Nacional de Abastecimento – Brasília: Conab 2013.

Disponível em <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_08\\_09\\_10\\_43\\_44\\_boletim\\_portuges\\_agosto\\_2013\\_port.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_09_10_43_44_boletim_portuges_agosto_2013_port.pdf)> Acesso em 29 de agosto de 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, set/2011. 41 p.

CORREA, S. T.; COUTO, E. P. A história do algodão no Brasil e seu desenvolvimento no estado de Mato Grosso, o atual maior produtor do país. **Revista Eletrônica Humana**. Universidade Federal de Uberlândia, MG, p. 30, 2007.

COSTA, J. N.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTANA, J. C. F.; COSTA, I. L. L.; WANDERELY, M. J. R.; SANTANA, J. C. S. **Técnicas de colheita, processamento e armazenamento do algodão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 14p. (Circular técnica).

COSTA, L. L.; MARTINS, B. C.; FUNICHELLO, M.; BUSOLI, A. C. Dinâmica populacional de ovos e lagartas e parasitismo de ovos de curuquerê-do-algodoeiro por *Trichogramma pretiosum* em cultivares convencionais e transgênicas de algodoeiro. **Biosciense Journal**, Uberlândia, v.27, n.6, p.939-947, 2011.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança 2005. Liberação comercial de algodão geneticamente modificado resistente às principais pragas da Ordem Lepidoptera. In: **Parecer Técnico Prévio Conclusivo Nº 513/2005**, 2005.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança 2010. Liberação comercial de soja geneticamente modificado resistente a insetos e tolerante a herbicida MON 8771 \_ MON 89788. In **Parecer Técnico Prévio Conclusivo Nº 2542/2010**. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15347.html>. Acesso em: 30 de Agosto de 2013.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança 2012. **Aprovações comerciais** – Disponível em: <http://www.cib.org.br/ctnbio/EventosAprovados-Abr-2012.pdf>. Acesso em: 30 de agosto de 2013.



CUNHA, F. M. **Parâmetros imunológicos e morfofisiológicos em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae)** expostos a Cry1Ac. 2011. 100f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011.

DAVIS, M. K.; LAYTON, M. B.; VARNER, J. D.; LITTLE, G. Field evaluation of Bt-transgenic cotton in the Mississippi Delta. In: **Beltwide Cotton Conferences**, San Antonio, 1995. Proceedings... Memphis: National Cotton Council, 1995. p. 771 – 775.

DOWN, R. E.; GATEHOUSE, A. M. R.; HAMILTON, W. D. O.; GATEHOUSE, J. A. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vitro and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 42, p.1035-1045, 1996.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.47, p. 501-533, 2002.

FERREIRA FILHO, J. B. S.; ALVES, L. R. A. Aspectos Econômicos do algodão no cerrado. In: FREIRE, E.C. (Ed.). **Algodão no Cerrado do Brasil. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão (ABRAPA)**, 2007. v.1, p.53-90, 2007.

FERRY, N.; MULLIGAN, E. A.; STEWART, C. N.; TABASHNIK, B. E.; PORT, G. R.; GATEHOUSE, A. M. R. Prey-mediated effects of canola on a beneficial, non-target, carabidae beetle. **Trangenic Research**, Netherland, v. 15, p.501-514, 2006.

FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJI, E.; PANIZZI, A. R. The environmental effects of genetically modified crops resistant to insects. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.3: p.497-513, 2002.

FONTES, E. M. G.; SILVA, F. R.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A. V.; SIMON, M. F.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. The cotton agricultural context in Brazil. In: HILBECK, A.; ANDOW, D. A.; FONTES, E. M. G. (Eds.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI Publishing, 2006, v. 2. p. 21-66.

FUNICHELLO, M. **Aspectos bioecológicos de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares convencionais e transgênicas de algodoeiro.** 58 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP. 2012.

FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J. F. J.; BUSOLI, A. C. Distribución vertical de huevos parasitados y no parasitados de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) por *Trichogramma pretiosum* em algodón em Brasil. In: XLVI Congresso Nacional de Entomologia, Cancún, México. **Entomología Mexicana**, Cancún, v. 10. p. 375-378, 2011.

FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J. F. J.; SOUZA, B. H. S.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; BUSOLI, A. C. Effect of transgenic and non-transgenic cotton cultivars on the development and survival of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v.8, p.5424-5428, 2013.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; DE BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola.** Piracicaba: FEALQ. 920p, 2002.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. ***Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety.*** Chichester: John Wiley, 2000. 350p.

GOATER, B.; RONKAY, L.; FIBIGER, M. Noctuidae Europeae. Soro: **Entomological Press**, 2003. v.10, 452 p.

GOULD, F. Evolutionary biology and genetically engineered crops. **BioScience**, Washington, v.38, n.1, p.26-33, 1988.

GREENBERG, S. M.; LI, Y. X.; LIU, T. X. Effect of age of transgenic cotton on mortality of lepidopteran larvae. **Southwestern Entomologist**, Weslaco, v.35, n.3, p.261-268, 2010.

HAYWARD, H. E. Malvaceae (*Gossypium* spp.): In **The structure of economic plants.** New York: The Macmillan Co, 1938. p. 411-450.

HENSLEY, S. D.; NEWSON, L. D.; CHAPIN, J. Observations on the looper complex of the noctuid subfamily Plusiinae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 57, p. 1006-1007, 1964.

HERZOG, D. C. Sampling soybean looper on soybean. In: KOGAN, M.; HERZOG, D.C. (Ed.). **Sampling methods in soybean entomology**. New York: Springer-Verlag, 1980. p.140-168.

JAMES, C. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2009. **Ithaca, NY, ISAAA Briefs 39**, 2009.

JENSEN, R. L.; NEWSON, L. D.; GIBBENS, J. Soybean Looper; effect of adult nutrition on oviposition, mating frequency and longevity. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 67, p. 467-4760, 1974.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 1983. 777p.

JOST, D.J.; PITRE, H.N. Soybean looper and cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) populations in cotton and soybean cropping systems in Mississippi. **Journal of Entomological Science**, Georgia, v. 37, p. 227-235, 2002.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2 ed. São Paulo: Ícone. 1991. 336p.

LINGREN, P.D.; GREENE, G.L.; DAVIS, D.R.; BAUMHOVER, A.H.; HENNEBERRY, T.J. Nocturnal behavior of four lepidopteran pests that attack tobacco and other crops. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, p. 161-167, 1977.

MAIA, A. H. N. Definindo estratégias de manejo da resistência de pragas a toxinas Bt expressas em culturas transgênicas: **o papel dos modelos de simulação**. 2010 Disponível em: < [http://www.cnpma.embrapa.br/down\\_hp/345.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/down_hp/345.pdf)>. Acesso em: 26 de agosto de 2013.

MALAQUIAS, J. B. **Interações do algodão *Bt*, do inseticida imidacloprid e do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin.** 2012. 72f. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2012.

McGAUGHEY; W. H.; WHALON, M. E. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Science**, Washington, v.258, p.1451-1455, 1992.

MELO FILHO, G. A.; RICHETTI, A.; VIEIRA, R. C. M.; OLIVEIRA, A. J.; LOPES, M. R. Cadeia produtiva do algodão: eficiência econômica e competitividade no centro-oeste. In: VIEIRA, R. C. M. T.; TEIXEIRA FILHO, A. R.; OLIVEIRA, A. J.; LOPES, M. R. (Ed.). **Cadeias produtivas no Brasil. Análise da competitividade.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Embrapa. Secretaria de Administração Estratégica, 2001. 469p. Cap. 4, p. 77-108.

MITCHELL, E. R. Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Georgia Entomological**, Georgia, v.2, p. 53-57, 1967.

MONNERAT, R.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: Melo, I., Azevedo, J. **Controle Biológico.** Jaguariúna – SP, v. 3, 2000, P.163-200.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja – Manejo Integrado de Pragas e outros Artrópodes-praga.** Brasília, DF: Embrapa, 2012. Cap. 4, p. 213-309.

NAGOSHI, R. N. Can the amount of corn acreage predict fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation levels in nearby cotton. **Journal of Economic Entomology.** Lanham, v. 102, p. 210-218, 2009.

OMOTO, C. **Parecer técnico prévio conclusivo sobre a segurança ambiental do algodão Bollgard II® - Evento 15985.** Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2008.

PAPA, G. Manejo integrado de pragas. In: ZAMPOLIN, L.; CONCEIÇÃO, M.Z.; SANTIAGO, T.(Ed.). **O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários.** Viçosa: UFV, 2003. p. 203-233.

PAPA, G.; CELOTO, F.J. **Lagartas na soja**. 2007. Ilha Solteira, São Paulo, 2007. Disponível em: <[www.ilhasolteira.com.br/colunas/index.php?acao=verartigo&idartigo=1189090532](http://www.ilhasolteira.com.br/colunas/index.php?acao=verartigo&idartigo=1189090532)>. Acesso em: 12 dez. 2013.

PETERSON, A. Egg types among moths of the Noctuidae. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 47, p. 71-100, 1964.

POLANÍA, I. Z.; RODRÍGUEZ, J. A. A.; MALDONADO, H. A. A.; CRUZ, R. M.; BAYONAR, M. A. Susceptibilidad de cuatro nóctuidos plaga (Lepidoptera) al gene Cry1Ac del *Bacillus thuringiensis* incorporado al algodónero. **Revista Colombiana de Entomología**, Santafe de Bogotá, v. 34, n. 1, p. 41-50, 2008.

RAMIRO, Z. A.; FARIA, A. M. Levantamento de insetos predadores nos cultivares de algodão Bollgard®DP90 e convencional delta pine acala 90. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.119-121, 2006.

SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E.C. (Ed). **Algodão no cerrado do Brasil**. 2007. p. 403-478.

SANTOS, W. J.; BARBOSA, C. A. S.; PEDROSA, M. B. Estudo do comportamento da falsa-medideira e ou mede-palmo na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Oeste da Bahia. 2010. Disponível em: <[http://circuloverde.com.br/art/safra\\_0809/algodao/relatoriofinalensaiosdeplusiasafra0809.pdf](http://circuloverde.com.br/art/safra_0809/algodao/relatoriofinalensaiosdeplusiasafra0809.pdf)>. Acesso em: 20 jul. 2013.

SANTOS, R. L., TORRES, J. B. Produção da proteína Cry1Ac em algodão transgênico e controle de lagartas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.5, n.4: p.509-517, 2010.

SAYYED, A. H.; CERDA, H.; WRIGHT, D. J. Could Bt transgenic crops have nutritionally favourable effects on resistant insects? **Ecology Letters**, Oxford, v. 6, p. 167-169, 2003.

SHOUR, M. H.; SPARKS, T. C. Biology of the soybean looper, *Pseudoplusia includens*: Characterization of last-stage larvae. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 74, p. 531-535, 1981.

SILVA, F.A.S. **Assistat 7.7**. UFCG, Campina Grande, 2013.

SILVIE, P.; BÉLOT, J. L.; MICHEL, B. **Manual de identificação das pragas e seus danos no cultivo de algodão**. Cascavel: COODETEC/CIRAD-CA, 2007. 120 p. (Boletim Técnico 34).

SMILOWITZ, Z. Electrophoretic patterns in hemolymph protein of cabbage looper during development of the parasitoid *Hyposoter exiguae*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park v. 66, p. 93-99, 1973.

SORGATTO, R. J. **Sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* e *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em algodão Cry1Ac/Cry2Ab2 e Cry1Ac/Cry1F: Implicações para o Manejo da Resistência de Insetos**. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 78p. Piracicaba, 2013.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 2010. 90 p. (Embrapa – CNPSo. Documentos, 269).

SOUSA, M. E. C.; WANDERLEY-TEIXEIRA V.; TEIXEIRA, A. A. C.; SIQUEIRA, H. A. A.; SANTOS, F. A. B.; ALVES, L. C. Histopathology and ultrastructure of midgut of *Alabama argilacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) fed Bt-cotton. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 56, p. 1913-1919, 2010.

STEWART, S. D, ADAMCZYCK, J. J, KNIGHTEN, K. S, DAVIS, F. M. Impact of Bt cotton expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, n. 3, p. 752-760, 2001.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.39, p.47-79, 1994.

TABASHNIK, B. E.; CARRIÈRE, Y. Bt transgenic crops do not have favorable effects on resistant insects. **Journal of Insect Science**, Madison, v. 4, n. 4, 3pp, 2004.

TABASHNIK, B. E.; GASSMANN, A. J.; CROWDER, D. A.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, London, v. 26, n. 2, p. 199-202, 2008.

TINDALL, K. V.; SIEBERT, M. W.; LEONARD, B. R.; ALL, J.; HAILE, F.J. Efficacy of Cry1Ac:Cry1F proteins in cotton leaf tissue against fall armyworm, beet armyworm, and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.102, n.4, p.1497-1505, 2009.

TOMQUELSKI, G. V. **Atividade de indutores de resistência a pragas e doenças na cultura do algodão**. 2005. 65f. Dissertação. (Mestrado) – Faculdade de Engenharia - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2005.

TUMLINSON, J. H.; MITCHELL, E. R.; BROWNER, S. M.; LINDQUIST, D. A. A sex pheromone for the soybean looper. **Environmental Entomology**, College Park, v. 1, p. 466-468, 1972.

VÁZQUEZ, W. R. C. **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus de poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja**. 1986. 164 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola superior de Agricultura “Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

WOLCOTT, G. N. Insectae Borinquenses. **Journal Agriculture University**, Puerto Rico, v. 20, p. 1-627, 1936.

WRIGHT, D. J.; VERKERK, R. H. J. Integration of chemical and biological control systems for arthropods: evaluation in a multitrophic contexto. **Pesticide Science**, Londres, v.44, p.207-218, 1995.