

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 10/02/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**INTERAÇÕES MOLECULARES DAS PROTEÍNAS CRY1 E
VIP3 NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM CANA-DE-
AÇÚCAR**

Ana Rita Nunes Lemes

Engenheira Agrônoma

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**INTERAÇÕES MOLECULARES DAS PROTEÍNAS CRY1 E
VIP3 NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM CANA-DE-
AÇÚCAR**

Ana Rita Nunes Lemes

Orientadora: Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério

Co-orientador: Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes

Tese apresentada à, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

L552i Lemes, Ana Rita Nunes
Interações moleculares das proteínas Cry1 e Vip3 no controle de
lepidópteros em cana-de-açúcar / Ana Rita Nunes Lemes. – –
Jaboticabal, 2016
xix, 60 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientadora: Janete Aparecida Desidério

Banca examinadora: Alexandre de Sene Pinto, Aliandra Maura
Gibertoni Malaman, Sonia Marli Zingaretti, Vivian Boter Bergamasco
Bibliografia

1. Controle biológico. 2. *Diatraea flavipennella*. 3. *Elasmopalpus
lignosellus*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias.

CDU 632.937:633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ANA RITA NUNES LEMES – Nascida em Ituiutaba, MG, no dia vinte e seis de abril de 1985. Filha de Sílvio Lemes Junior e Maria das Graças Franco Nunes Lemes. Iniciou o curso de Engenharia Agrônoma em 2005, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal (FCAV/UNESP), que foi concluído em fevereiro de 2010. Foi bolsista de iniciação científica, PIBIC, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no período de 01/08/2008 a 31/07/2009. Em março de 2010, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal. Recebeu o título de Mestre em fevereiro de 2012. Em março de 2012, ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Aos meus pais, Sílvio e Maria das Graças,
que tanto se esforçaram na criação de seus
filhos, por me apoiarem e proporcionarem o
que estava ao alcance deles para que tudo
desse certo.

Ofereço

Aos meus irmãos, Luciana e Lúcio, pela constante
torcida pelo meu sucesso.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois sem Ele nada seria possível.

À Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério, por ser acima de tudo uma grande amiga e por incentivar-me desde a época da graduação acreditando no meu potencial. Obrigada pela paciência e pelos conselhos acadêmicos, pessoais e profissionais.

Ao Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes, pela co-orientação desde a época da graduação, amizade, ensinamentos, disponibilidade, além das sugestões sempre valiosas.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro na forma de bolsa de estudo e pelo incentivo à pesquisa.

À FCAV/UNESP (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

À técnica do Laboratório Eliane por toda ajuda neste trabalho, pela convivência, aprendizado e carinho durante esta etapa da minha vida.

Aos Doutores Agda Paula Facincani, Alexandre de Sene Pinto, Aliandra Maura Gibertoni Malaman, Jackson Antônio Marcondes de Souza, Manoel Victor Franco Lemos, Ricardo Antônio Polanczyk, Sonia Marli Zingaretti, Vivian Boter Bergamasco, pela participação nas bancas examinadoras e valiosas sugestões científicas que muito contribuíram para esta tese.

Aos meus amigos pelos felizes anos de convivência, amizade e companheirismo.

Às amigas, Isis e Camila, pela amizade, companheirismo no trabalho, infinitas ajudas, risadas e viagens realizadas juntas. Obrigada por estarem comigo nesta caminhada.

À minha querida amiga Fernanda pela convivência durante todos estes anos, amizade, parceria e companheirismo em todos os momentos.

Aos companheiros do Laboratório pela colaboração e agradável convívio.

À minha família, que sempre me incentivou e esteve presente, independente da distância.

Às minhas queridas sobrinhas Elisa e Lara e ao meu querido sobrinho Pedro que com pequenos gestos me enchem de alegria.

Aos professores e funcionários da FCAV, em especial aos do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária.

À todos aqueles que de uma maneira ou outra, prestaram o seu apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
LISTAS DE FIGURAS E TABELAS.....	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Cana-de-açúcar.....	4
2.2. <i>Bacillus thuringiensis</i>	5
2.2.1 Proteínas Cry e Vip	6
2.2.2 Modo de ação das proteínas de <i>Bacillus thuringiensis</i>	8
2.2.3 Resistência dos insetos às proteínas Bt.....	10
2.3. <i>Diatraea flavipennella</i>	13
2.4. <i>Elasmopalpus lignosellus</i>	14
3. OBJETIVOS	15
3.1. Objetivos específicos	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1. Obtenção das proteínas Cry1 e Vip3	16
4.2. Expressão das proteínas Cry1	18
4.3. Expressão das proteínas Vip3.....	19
4.4. Eletroforese SDS-PAGE e quantificação das proteínas	20
4.5. Bioensaios e estimativa da concentração letal média (CL ₅₀) com as proteínas Cry1 e Vip3 para <i>Diatraea flavipennella</i> e <i>Elasmopalpus lignosellus</i>	20
4.6. Purificação das proteínas	23
4.7. Ativação e marcação das proteínas	23
4.8. Coleta de intestino e preparo de BMV	24
4.9. Ligand-Blotting	26
4.10. Testes de competição homóloga e heteróloga das proteínas Cry1 e Vip3.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1. Expressão e análise das proteínas Cry1 e Vip3.....	27
5.2. Bioensaios com proteínas Cry1 e Vip3 para <i>Diatraea flavipennella</i> e <i>Elasmopalpus lignosellus</i>	28
5.3. Purificação, ativação e marcação das proteínas com biotina.....	32
5.4. Detecção dos receptores por Ligand-Blotting.....	35
5.5. Análises das competições homóloga e heteróloga entre Cry1 e Vip3.....	38
6. CONCLUSÕES	44
7. REFERÊNCIAS.....	45

INTERAÇÕES MOLECULARES DAS PROTEÍNAS CRY1 E VIP3 NO CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS EM CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO - O potencial biotecnológico das proteínas Cry e Vip provenientes da bactéria *Bacillus thuringiensis* é amplamente conhecido. Porém, a evolução da resistência de pragas é a principal ameaça a longo prazo do controle de insetos-praga por plantas transgênicas com toxinas desta bactéria. Estudos relatam a necessidade de se retardar a evolução da resistência e dentre as possibilidades, a utilização de mais de um gene na construção de plantas transgênicas mostra-se eficiente. Dessa forma, é importante buscar novos genes, com diferentes modos de ação, e selecionar os que apresentam atividade entomotóxica diferenciada para *Diatraea flavipennella* e *Elasmopalpus lignosellus*, que são pragas secundárias e potenciais da cana-de-açúcar. Para tanto, proteínas Cry1 e Vip3 foram expressas em *Escherichia coli* e a toxicidade verificada por meio de bioensaios com lagartas neonatas de ambas as espécies de insetos-praga. As proteínas foram purificadas, solubilizadas, ativadas com tripsina e biotinizadas. As BBMV's (Brush Border Membrane Vesicles) foram preparadas a partir dos intestinos de lagartas das duas espécies para realização de ensaios de competição homóloga e heteróloga. Considerando a CL50, as proteínas Cry1Ac e Vip3Aa foram as mais efetivas no controle dos insetos-praga em estudo. O ensaio de ligação mostrou que ocorreu interação entre todas as proteínas e os receptores das duas espécies de lagartas. Os ensaios de competição heteróloga demonstraram não haver competição entre as proteínas Cry1 e Vip3 pelos mesmos sítios de ligação para ambas espécies de insetos estudadas. Os resultados obtidos sugerem a combinação de Cry1Aa ou Cry1Ac com Vip3Aa para futuros eventos de geração de cana-de-açúcar geneticamente modificada o que poderia contribuir para o manejo da resistência por estes insetos.

Palavras-chaves: controle biológico, *Diatraea flavipennella*, *Elasmopalpus lignosellus*, proteínas inseticidas

MOLECULAR INTERACTIONS OF CRY1 AND VIP3 PROTEINS IN THE CONTROL OF LEPIDOPTERANS IN SUGARCANE

ABSTRACT – The biotechnological potential of Cry and Vip proteins from the bacterium *Bacillus thuringiensis* is widely known. However, the evolution of pest resistance is a major threat to long-term control of insect pests by transgenic plants with toxins of this bacterium. Studies have reported the need to slow down the evolution of resistance and, among the possibilities, the use of more than one gene in the construction of transgenic plants is shown to be efficient. Thus, it is important to look for new genes with different modes of action, and select those with different entomotoxic activity to *Diatraea flavipennella* and *Elasmopalpus lignosellus*, which are secondary and potential sugarcane pests. Therefore, Cry1 and Vip3 proteins were expressed in *Escherichia coli* and the toxicity was verified by bioassays using neonate larvae of both species of the insect pests. The proteins were purified, solubilized, and activated with trypsin and biotinylated. The BBMs (Brush Border Membrane Vesicles) were prepared using the intestines of the two species to perform the homologous and heterologous competition assays. Considering the LC₅₀, the Cry1Ac and Vip3Aa proteins were the most effective in controlling the insect pests in this study. The binding assays showed that there was interaction between the proteins and the receptors of the two species of larvae. The heterologous competition assays showed no competition between Cry1 and Vip3 proteins for the same binding sites for both species studied. The results suggest that the combination of Cry1Aa or Cry1Ac with Vip3Aa for future events of sugarcane generation genetically modified could contribute to resistance management for these insects.

Keywords: biological control, *Diatraea flavipennella*, *Elasmopalpus lignosellus*, insecticidal proteins

LISTA DE ABREVIATURAS

AC - Adenilato ciclase
ALP - Fosfatase alcalina
AMPC - Adenosina monofosfato cíclico
APN - Aminopeptidase-N
BBMV - Brush Border Membrane Vesicles
BSA - Albumina sérica bovina
Bt - *Bacillus thuringiensis*
CAD - Caderina
CL₅₀ - Concentração que mata 50% da população testada
cm² - Centímetros quadrado
Cyt - Toxinas citolíticas
EDTA - Ditiotreitól
G - Grama
GPI - Glicosil fosfatidilinositol
IPTG - Isopropil-β-D-tiogalactopiranosídeo
kDa - Quilodalton
mL - Mililitro
ng - Nanograma
nM - Milimolar
°C - Graus Celsius
PBS - Salina tamponada com fosfato (pH 7,4)
PKA - Proteína quinase A
PMSF - Fluoreto de Fenil Metil Sulfonila
PVDF - Fluoreto de Polivinilideno
Vip - Proteínas inseticidas vegetativas
μg - Micrograma
μL - Microlitro

LISTAS DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Fluxograma de material e métodos.....	17
Tabela 1. Ingredientes utilizados na preparação da dieta artificial utilizada nos bioensaios com <i>D. flavipennella</i>	21
Tabela 2. Ingredientes utilizados na preparação da dieta artificial utilizada nos bioensaios com <i>E. lignosellus</i>	22
Figura 2. A- lagartas de <i>E. lignosellus</i> de quarto instar; B- Retirada de intestino de <i>E. lignosellus</i>	25
Figura 3. Análise de SDS-PAGE 12% das proteínas Cry1 e Vip3.....	28
Tabela 3. Suscetibilidade de lagartas neonatas de <i>D. flavipennella</i> contra proteínas Cry1 e Vip3.....	29
Figura 4. Purificação das proteínas Cry1Aa (A) e Cry1Ac (B) após ativação com tripsina.....	33
Figura 5. Purificação da proteína Vip3Aa.....	33
Figura 6. Produção, Purificação e ativação das proteínas Cry1(A) e Vip3Aa.....	34
Figura 7. Análise por Dot Blot das frações das proteínas Vip3Aa (A) e Cry1Ia10 (B) biotiniladas. Os números são a sequência das frações biotiniladas eluídas da coluna P10 Desalting.....	35
Figura 8. Detecção do receptor putativo para as toxinas Cry1Aa (A), Cry1Ac (B) e Vip3Aa (C) em BBMV de <i>D. flavipennella</i>	36
Figura 9. Detecção do receptor putativo para as toxinas Cry1Aa (A), Cry1Ac (B) e Vip3Aa (C) em BBMV de <i>E. lignosellus</i>	36
Figura 10. Competição homóloga com: (1) Cry1Aa, (2) Cry1Ac, (3) Vip3Aa.....	40
Figura 11. Competição heteróloga. (1) Cry1Aa e Vip3Aa.....	41
Figura 12. Modelo proposto de ligação das proteínas Cry1 e Vip3A na BBMVs de <i>D. flavipennella</i> e <i>E. lignosellus</i>	42

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância econômica no mundo e uma das mais importantes culturas do setor primário da agroindústria brasileira. Todavia, uma das principais limitações no cultivo da cana é a ocorrência frequente de pragas. Esta cultura é atacada por diversos insetos-praga (MENDONÇA et al., 1996; ALMEIDA, 2005; SRIKANTH et al., 2011), que provocam perdas na produção. Apenas no Brasil estas perdas podem atingir 10% (OLIVEIRA et al., 2014), devido ao ataque principalmente da broca-do-colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) e cigarrinha-da-raiz, *Mahanarva* spp. (Hemiptera: Cercopidae).

Todavia, algumas pragas secundárias, tais como *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) e *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) apresentam surtos populacionais e/ou são importantes em algumas regiões, como por exemplo, no nordeste brasileiro e podem também afetar a produtividade da cana-de-açúcar. Isso decorre, porque vários fatores podem causar mudança significativa na importância de diferentes pragas de forma que algumas pragas-chave perdem importância relativa enquanto outras que foram previamente consideradas secundárias agora representam grandes desafios para o controle de pragas.

Para o controle de insetos-praga de importância agrícola ainda tem sido utilizados os inseticidas químicos. No entanto, existe um interesse no desenvolvimento de alternativas efetivas aos químicos visto que eles são prejudiciais a saúde humana e ao ambiente. Muitas proteínas e moléculas que são eficazes contra as pragas agrícolas e inócuos para os mamíferos e outros organismos estão disponíveis na natureza.

Entre essas proteínas estão as proteínas inseticidas que são produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915, a qual tem sido utilizada no controle biológico como bioinseticidas (VALADARES-INGLIS et al., 1998). Uma das vantagens da utilização de *B. thuringiensis* é sua especificidade aos insetos sensíveis à ação de suas toxinas. Além disso, essa bactéria não possui efeito poluente ao meio ambiente, pois é inócua aos mamíferos, outros invertebrados e às plantas (WHITELEY;

SCHNEPF, 1986). Outra vantagem proporcionada por essa bactéria é a utilização dos seus genes em plantas transgênicas. Essas plantas geneticamente modificadas são capazes de produzir toxinas específicas de *B. thuringiensis*, que são tóxicas a insetos. Desse modo, as plantas transgênicas constituem-se em mais uma alternativa com grande potencial de proteção contra os ataques de insetos-praga, além dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis*.

Culturas transgênicas que expressam proteínas de *B. thuringiensis* (*Bt*) são utilizadas no manejo de pragas em todo o mundo desde que foram comercializadas pela primeira vez em 1996 (TABASHNIK et al., 2013; JAMES, 2014). Estas necessitam de menos aplicações de agrotóxicos, reduzem custos de produção, proporcionam especificidade contra as pragas-alvo, além de promoverem a conservação dos inimigos naturais e não causarem danos ao meio ambiente e saúde humana quando comparada aos agrotóxicos (JAMES, 2002).

Apesar das vantagens apresentadas pelas plantas transgênicas, é recorrente a preocupação com o uso generalizado de plantas Bt, pois relatos indicam que a pressão sob insetos-alvo expostos a proteínas inseticidas acelera a seleção de organismos resistentes, além da preocupação com a emergência de pragas secundárias (ZHANG et al., 2013). A evolução da resistência em populações de pragas pode reduzir os benefícios econômicos e ambientais de plantas transgênicas. Alguns casos de resistência no campo já foram constatados; entre eles: *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) para milho *cry1Ab* na África do Sul (VAN RENSBURG, 2007), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) para algodão *cry1Ac* na China (LIU et al., 2010), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) ao milho *cry1F* em Puerto Rico (STORER et al., 2010), *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) para algodão *cry1Ac* na Índia (DHURUA; GUJAR, 2011) e *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae) para milho *cry3Bb1* nos EUA (GASSMANN et al., 2011) e recentemente foi documentada a resistência de *S. frugiperda* no Brasil (FARIAS et al., 2014).

Algumas variedades de cana já foram projetadas com genes *cry1Ab* e *cry1Ac*, que já estão presentes em cultivos comerciais de milho, algodão e soja, a fim de

controlar várias pragas primárias, com destaque para *D. saccharalis* (KOZIEL et al., 1993; WENG et al., 2011). Devido à disponibilidade de eventos comerciais com empilhamento múltiplo de genes, tornam-se importantes os estudos de proteínas para controle também de pragas secundárias bem como suas interações com os receptores de membrana do epitélio intestinal destes insetos. Estes estudos permitem estabelecer possíveis estratégias para reduzir a probabilidade da evolução da resistência.

Apesar de essas culturas transgênicas serem uma alternativa interessante no controle de pragas, elas podem ocasionar alguns problemas como o surgimento de populações resistentes (TABASHNIK et al., 2008). Portanto, o estudo da atividade das toxinas de Bt contra populações suscetíveis e resistentes de lagartas, e suas interações com os receptores das células epiteliais desses insetos torna-se muito importantes para a melhor compreensão do modo de resistência dos insetos.

Dessa forma o objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade das proteínas Cry1Aa, Cry1Ac, Cry1Ca, Vip3Aa e Vip3Ca contra *D. flavipennella* e *E. lignosellus* e avaliar a competição entre estas proteínas por receptores presentes no intestino médio destes lepidópteros-praga. Com isso, pretendeu-se sugerir as melhores combinações para construção de plantas de cana-de-açúcar geneticamente modificadas eficientes no controle destes insetos em estudo, bem como possibilitar o retardamento de eventual evolução da resistência destas pragas secundárias às proteínas de *B. thuringiensis*.

6. CONCLUSÕES

Os dados aqui apresentados revelam potencial de controle das proteínas Cry1Ac e Vip3Aa de *B. thuringiensis* à *D. flavipennella* e *E. lignosellus*. A proteína Vip3Ca não é indicada para o controle de *D. flavipennella*. Constatou-se a presença dos receptores para aminopeptidase e fosfatase alcalina nas três proteínas estudadas. Ensaio de união sugeriram um modelo com dois receptores distintos (Cry1Aa e Cry1Ac; Vip3Aa). Dentre as proteínas estudadas Cry1Aa/Vip3Aa e Cry1Ac/Vip3Aa merecem destaque, visto que não competem pelo mesmo receptor no intestino dos insetos estudados e portanto, podem ser combinadas para obtenção de plantas transgênicas piramidadas de cana-de-açúcar. No entanto, a combinação Cry1Aa/Cry1Ac não seria indicada, visto que ambas ocupam o mesmo sítio receptor para ambos os insetos.

7. REFERÊNCIAS

- ABDELKEFI-MESRATI, L.; BOUKEDI, H.; CHAKROUN, M.; KAMOUN, F.; AZZOUZ, H.; TOUNSI, S.; ROUIS, S.; JAOUA, S. Investigation of the steps involved in the difference of susceptibility of *Ephestia kuehniella* and *Spodoptera littoralis* to the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 toxin. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 107, n. 3, p. 198-201, 2011.
- ABDELKEFI-MESRATI, L.; BOUKEDI, H.; DAMMAK-KARRAY, M.; SELLAMI-BOUDAWARA, T.; JAOUA, S.; TOUNSI, S. Study of the *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 histopathological effects and determination of its putative binding proteins in the midgut of *Spodoptera littoralis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 106, n. 2, p. 250-254, 2011.
- ABDELKEFI-MESRATI, L.; ROUIS, S.; SELLAMI, S.; JAOUA, S. *Prays oleae* midgut putative receptor of *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3LB differs from that of Cry1Ac toxin. **Molecular Biotechnology**, v. 43, n. 1, p. 15-19, 2009.
- ADANG, M. J.; CRICKMORE, N.; JURAT-FUENTES, J. L. Diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action. **Advances in Insect Physiology**, v. 47, p. 39–87, 2014.
- ALMEIDA, L. C. **Bicudo da Cana-de-açúcar**. Piracicaba: *Centro De Tecnologia Canavieira*, 2005. p.1-3. (Boletim Técnico C.T.C).
- ARENAS, I.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M.; GÓMEZ, I. Role of alkaline phosphatase from *Manduca sexta* in the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 17, p. 12497–12503, 2010.
- BARANEK, J.; KAZNOWSKI, A.; KONECKA, E.; NAIMOV, S. Activity of vegetative insecticidal proteins Vip3Aa58 and Vip3Aa59 of *Bacillus thuringiensis* against lepidopteran pests. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 130, p. 72–81, 2015.
- BARROS, R. Pragas do milho safrinha. Tecnologia e Produção: Milho safrinha e culturas de inverno 2009. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/58414164/07-Pragas-Do-Milho-Safrinha>> Acesso em: 20 set. 2015.
- BEN HAMADOU-CHARFI, D.; BOUKEDI, H.; ABDELKEFI-MESRATI, L.; TOUNSI, S.; JAOUA, S. *Agrotis segetum* midgut putative receptor of *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3Aa16 differs from that of Cry1Ac toxin. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, n. 2, p. 139-43, 2013.

BERGAMASCO, V. B.; MENDES, D. R. P.; FERNANDES, O. A.; DESIDÉRIO, J. A.; LEMOS, M. V. F. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia10 and Vip3Aa protein interactions and their toxicity in *Spodoptera* spp. (Lepidoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, n. 2, p. 152–158, 2013.

BESSIN, R. The common stalk borer in corn. Entomology. 2004. Disponível em: <<http://www.ca.uky.edu/entomology/entfacts/ef100.asp>> Acesso em: 06 set. 2015.

BHALLA, R.; DALAL, M.; PANGULURI, S. K.; JAGADISH, B.; MANDAOKAR, A. D.; SINGH, A. K.; KUMAR, P. A. Isolation, characterization and expression of a novel vegetative insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 243, n. 2, p. 467–472, 2005.

BLUME, H. **Geography of sugar cane**: environmental, structural and economical aspects of cane sugar production. Berlin: Dr. Albert Bartens Verlag, 1985. 248 p.

BOTELHO, P. S. M. **Controle biológico e controle químico de pragas em cana-de-açúcar**. Workshop tecnológico sobre pragas da cana-de-açúcar. Piracicaba: ESALQ/USP, 2007. 76p.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.), **Controle biológico no Brasil**: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. p. 477-494.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Anal Biochemical**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERON, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, p. 423-435, 2007.

BRAVO, A.; GOMEZ, I.; CONDE, J.; MUNOZ-GARAY, C.; SANCHEZ, J.; MIRANDA, R.; ZHUANG, M.; GILL, S. S.; SOBERON, M. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. **Biochemical Biophys Acta**, v. 1667, p. 38–46, 2004.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

CACCIA, S.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; MAHON, R.J.; DOWNES, S.; JAMES, W.; BAUTSOENS, N.; VAN RIE, J.; FERRÉ, J. Binding site alteration is responsible for

field- isolated resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry2A insecticidal proteins in two *Helicoverpa* species, **PLoS One**, v. 5, e9975, 2010.

CACCIA, S.; MOAR, W.; CHANDRASHEKHAR, J.; OPPERT, C.; ANILKUMAR, K.; JURAT-FUENTES, J.; FERRÉ, J. Association of Cry1Ac toxin resistance in *Helicoverpa zea* (Boddie) with increased alkaline phosphatase levels in the midgut lumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v.78, n.16, p.5690– 5698, 2012.

CALGARO, M.; COELHO, D. S. Respostas de variáveis fisiológicas e tecnológicas da cana- de-açúcar. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 46, n. 1, p. 11–20, 2015.

CARRIÈRE, Y.; CRICKMORE, N.; TABASHNIK, B. E. Optimizing pyramided transgenic crops for sustainable pest management. **Nature Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 161–168, 2015.

CHAKROUN, M.; BEL, Y.; CACCIA, S.; ABDELKEFI-MESRATI, L.; ESCRICHE, B. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *S. exigua* to *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa insecticidal protein. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.110, n. 3, p.334-339, 2012.

CHAKROUN, M.; FERRÉ, J. *In vivo* and *in vitro* binding of Vip3Aa to *Spodoptera frugiperda* midgut and characterization of binding sites using ¹²⁵I-radiolabeling. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 6258–6265, 2014.

CHITKOWSKI, R. L.; TURNIPSEED, S. G.; SULLIVAN, M. J.; BRIDGES, W. C. JR. Field and laboratory evaluations of transgenic cottons expressing one or two *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki Berliner proteins for management of noctuid (Lepidoptera) pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 3, p.755–762, 2003.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira cana-de-açúcar, disponível em:< http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_15_15_44_37_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_14.pdf>, acesso em 12 ago 2015.

CRIALESI-LEGORI, P. C. B.; DAVOLOS, C. C.; LEMES, A. R. N.; MARUCCI, S. C.; LEMOS, M. V. F.; FERNANDES, O. A.; DESIDÉRIO, J. A. Interação de proteínas Cry1 e Vip3A de *Bacillus thuringiensis* para controle de lepidópteros-praga. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 2, p. 79-87, 2014.

CRICKMORE, N.; BAUM, J.; BRAVO, A.; LERECLUS, D.; NARVA, K.; SAMPSON, K.; SCHNEPF, E.; SUN, M.; ZEIGLER, D. R. (2014) *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. Disponível em; <<http://www.btno-nomenclature.info/>> Acesso em: 15 out. 2014.

DAVOLOS, C. C. **Efeitos da interação e toxicidade das proteínas Cry1 e Vip3A de *Bacillus thuringiensis* em *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae)**. 2014. 63p. Tese (Doutorado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2014.

DAVOLOS, C. C.; HERNÁNDEZ-MARTINEZ, P.; CRIALESI-LEGORI, P. C. B.; DESIDÉRIO, J. A.; FERRÉ, J.; ESCRICHE, B.; LEMOS, M. V. F. Binding analysis of *Bacillus thuringiensis* Cry1 proteins in the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 127, p. 32–34, 2015.

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; BERRY, C.; CRICKMORE, N.; SCHNEPF, H. E. Structure, diversity and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. **Annual Review of Genetics**, v. 37, p. 409–433, 2003.

DE MAAGD, R.; KWA, M.; VAN DER KLEI, H.; YAMAMOTO, T.; SCHIPPER, B.; VLAK, J.; STIEKEMA, W.; BOSCH, D. Domain III substitution in *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin CryIA(b) results in superior toxicity for *Spodoptera exigua* and altered membrane protein recognition. **Applied and Environment Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1537–1543, 1996.

DHURUA, S.; GUJAR, G. T. Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p. 898–903, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Pragas. In: **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. p.349-404.

DIXON, W. N. Lesser cornstalk borer damage to forest nursery seedlings in Florida. USFS Tree Planter's Notes, Florida. **Entomology Circular**, 236, v. 33, n. 12, p. 37-39, 1982.

DOWNES, S. Adaptive management of pest resistance by *Helicoverpa* species (Noctuidae) in Australia to the Cry2Ab Bt toxin in Bollgard II cotton. **Evolutionary Applications**, v. 3, p. 574–584, 2010.

ESTELA, A.; ESCRICHE, B.; FERRE, J. Interaction of *Bacillus thuringiensis* toxins with larval midgut binding sites of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 1378-1384, 2004.

ESTRUCH, J. J.; WARREN, G. W.; MULLINS, M. A.; NYE, G. J.; CRAIG, J. A.; KOZIEL, M. G. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. P. Natl. Acad. Sci. USA, Washington, v. 93, p. 5389-5394, 1996.

FABRICK, J. A.; TABASHNIK, B. E. Binding of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac to multiple sites of cadherin in pink bollworm. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 37, n, 2, p. 97–106, 2007.

FAO. **Statistical yearbook 2013**: world food and agriculture. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/ess/ess-publications/ess_yearbook/en/#.VDwCm_ldV-4>. Acesso em: 01 ago. 2014.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; et al. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p.150–158, 2014.

FAST, P. G.; ANGUS, T. A. Effects of Parasporal Inclusions of *Bacillus thuringiensis* Var. Sotto Ishiwata on the Permeability of the Gut Wall of *Bombyx Mori* (Linnaeus) Larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 20, p. 29-32,1965.

FERNÁNDEZ, L.E., AIMANOVA, K.G., GILL, S.S., BRAVO, A., SOBERÓN, M.A. glicosilfosfatidil-inositol (GPI)- anchored alkaline phosphatases is a functional midgut receptor of Cry11Aa toxin in *Aedes aegypti* larvae. **Biochemical Journal**, v. 394, p. 77-84, 2006.

FERRÉ, J.; REAL, M. D.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; PEFFEROEN, M. Resistance to *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 12, p. 5119-5123, 1991.

FISCHHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MARRONE, P. G.; MCCORMICK, S. M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KUSANO-KRETZMER, K.; MAYER, E. J.; ROCHESTER, D. E.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. Insect tolerant transgenic tomato plants. **Nature Biotechnology**, v. 5, p. 807–813, 1987.

FLANAGAN, R.D.,CAO-GUO, Y.,MATHIS, J.P.,MEYER, T.E.,SHI, X.,SIQUEIRA, H.A.A., SIEGFRIED, B.D. Identification, cloning and expression of a Cry1Ab cadherin receptor from European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 35, p. 33- 40, 2005.

FLORES-ESCOBAR, B.; RODRÍGUEZ-MAGADAN, H.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M.; GÓMEZ, I. Differential Role of *Manduca sexta* Aminopeptidase-N and alkaline phosphatase in the mode of action of Cry1Aa, Cry1Ab, and Cry1Ac toxins from *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n.15, p.4543– 4550, 2013.

- FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. Cana-de-açúcar. In; _____. **AGRIANUAL 2014:** anuário estatístico da agricultura. São Paulo, 2014. p. 197-227.
- FREITAS, M. R. T.; SILVA, E. L.; MENDONÇA, A. L.; SILVA, C. E.; FONSECA, A. P. P.; MENDONÇA, A. L.; SANTOS, J. S.; NASCIMENTO, R. R.; SANTANA, A. E. G. The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. *Fl. Entomology*, v. 90, n. 2, p. 309-313, 2007.
- FREITAS, M. R.; FONSECA, A. P.; SILVA, E. L.; MENDONÇA, A. L.; SILVA, C. E.; MENDONÇA, A. L.; NASCIMENTO, R.; SANTANA, A. E. The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the states of Alagoas, Brazil. *Florida Entomologist*, v. 89, n. 4, p. 539-540, 2006.
- GAHAN, L. J.; GOULD, F.; HECKEL, D. G. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science*, v. 293, p. 857–860, 2001.
- GARCIA-ROBLES, I.; SANCHEZ, J.; GRUPPE, A.; MARTINEZ-RAMIREZ, A. C.; RAUSELL, C.; REAL, M. D.; BRAVO, A. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* PS86Q3 strain in hymenopteran forest pests. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v.31, n.9, p.849-856, 2001.
- GARCIA, J. F. **Manual de identificação de pragas da cana**. Campinas, 2013, 220 p.
- GASSMANN, A. J.; PETZOLD-MAXWELL, J. L.; KEWESHAN, R. S.; DUNBAR, M. W. Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm. **PLoS ONE**. v. 6, p. 1-7, 2011.
- GLARE, T. R.; O'CALLAGHAM, M. ***Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley and Sons, p. 350, 2000.
- GOMEZ, I.; SÁNCHEZ, J.; MUÑOZ-GARAY, C.; MATUS, V.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins are versatile proteins with multiple modes of action: two distinct pre-pores are involved in toxicity. **Biochemical Journal**, v. 459, n. 2, p. 383–396, 2014.
- GONZALEZ-CABRERA, J.; FARINÓS, G. P.; CACCIA, S.; DÍAZ-MENDOZA, M.; CASTAÑERA, P.; LEONARDI, M. G.; GIORDANA, B.; FERRÉ, J. Toxicity and mode of action of *Bacillus thuringiensis* cry proteins in the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 2594-2600, Apr 2006.
- GOUFFON, C.; VAN VLIET, A.; VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; JURAT-FUENTES, J. L. Binding sites for *Bacillus thuringiensis* Cry2Ae toxin on heliothine brush border membrane vesicles are not shared with Cry1A, Cry1F, or Vip3A toxin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 10, p. 3182–3188, 2011.

GRANERO, F.; BALLESTER, V.; FERRE, J. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins Cry1Ab and Cry1Fa share a high affinity binding site in *Plutella xylostella* (L.). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 224, n. 3, p. 779– 783, 1996.

HALL, I. M. Some fundamental aspects of applied insect pathology. **Advances in Pest Control Research**, New York, v. 4, p. 13-24, 1967.

HAN, L.; HAN, C.; LIU, Z.; CHEN, F.; JURAT-FUENTES, J. L.; HOU, M.; PENG, Y. Binding Site Concentration Explains the Differential Susceptibility of *Chilo suppressalis* and *Sesamia inferens* to Cry1A-Producing Rice. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 16, p. 5134–5140, 2014.

HANSEN, B. M.; SALAMITOU, S. Virulence of *Bacillus thuringiensis*. In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, ARMELLE; NIELSEN-LE ROUX, C. (Eds). **Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Application**. Netherland: Kluwer Academic Plubishers, p. 41- 64, 2000.

HERNÁNDEZ-MARTINÉZ, P.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; VAN RIE, J.; ESCRICHEM B.; FERRÉ, J. Insecticidal activity of Vip3Aa, Vip3Ad, Vip3Ae, and Vip3Af from *Bacillus thuringiensis* against lepidopteran corn pests. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 113, p. 78-81, 2013.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; HERNÁNDEZ-MARTINEZ, P.; VAN RIE, J.; ESRICHE, B.; FERRÉ, J. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. **PLoS One**, e68164, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0068164

HERNÁNDEZ, C. S.; RODRIGO, A.; FERRÉ, J. Lyophilization of lepidopteran midguts: a preserving method for *Bacillus thuringiensis* toxin binding studies. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 85, p. 182-187, 2004.

HERRERO, S.; GONZALEZ-CABRERA, J.; FERRÉ, J.; BAKKER, P. L.; DE MAAGD, R. Mutations in the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ca toxin demonstrate the role of domain II and III in specificity towards *Spodoptera exigua* larvae. **Biochemical Journal**, v. 384, n. 3, p. 507–513, 2004.

HOLLOWAY, R. L.; SMITH JUNIOR, J. W. Lesser cornstalk borer response to photoperiod and temperature. **Environmental Entomology**, Washington, DC, v. 5, n. 5, p. 996-1000, 1976.

HUA, G.; JURAT-FUENTES, J.L.; ADANG, M.J. Fluorescent-based assays establish *Manduca sexta* Bt-R1a cadherin as a receptor for multiple *Bacillus thuringiensis* Cry1A

toxins in *Drosophila* S2 cells. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 193-202, 2004.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER, R. L. JR.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; NI, X.; KERNS, D.; BUNTIN, G. D.; NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single gene versus pyramided Bt maize. **PLoS One**, v. 9, e112958, 2014.

HUSZ, B. On the use of *Bacillus thuringiensis* in the fight against the corn borer. **Institute Corn Borer Investigation Scienc Reporter**, v. 2, p. 99-110, 1929.

JAKKA, S.; FERRÉ, J.; JURAT-FUENTES, J. L. Cry Toxin Binding Site Models and their Use in Strategies to Delay Resistance Evolution. IN: SOBERÓN, M.; GAO, Y.; BRAVO, A. (Eds). **Bt Resistance: Characterization and Strategies for GM Crops Producing *Bacillus thuringiensis* Toxins**; 2015. pp. 138-149.

JAMES, C. Global status of commercialized biotech/GM Crops: 2014. *ISAAA Briefs 49* (ISAAA, Ithaca, NY, 2014).

JAMES, C. Global status of commercialized transgenic crops. 2002 ISAAA Brief no 27 ISAAA: Ithaca, NY.

JIN, L.; ZHANG, H.; LU, Y.; YANG, Y.; WU, K.; TABASHNIK, B.; WU, Y. Large-scale test of the natural refuge strategy for delaying insect resistance to transgenic Bt crops. **Nature Biotechnology**, v. 33, p. 169–174, 2015.

JIN, T.; CHANG, X.; GATEHOUSE, A.; WANG, Z.; EDWARDS, M.; HE, K. Downregulation and mutation of a Cadherin gene associated with Cry1Ac resistance in the Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée). **Toxins**, v. 6, n. 9, p. 2676-93, 2014.

JURAT-FUENTES, J. L.; ADANG, M. J. G. Importance of Cry1 d-Endotoxin Domain II Loops for Binding Specificity in *Heliothis virescens* (L.) **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 1, p. 323-329, 2001.

JURAT-FUENTES, J. L.; ADANG, M. J. The *Heliothis virescens* cadherin protein expressed in *Drosophila* S2 cells functions as a receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry1A but not Cry1Fa toxins. **Biochemistry**, v. 45, n. 32, p. 9688-9695, 2006.

KARIM, S.; RIAZUDDIN, S.; GOULD, F.; DEAN, D. H. Determination of receptor binding properties of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) and pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) midgut brush border membrane vesicles. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 67, n. 3, p. 198-216, 2000.

- KNOWLES, B. H.; DOW, J. A. T. The crystal δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*: models for their mechanisms of action on the insect gut. **BioEssays**, Cambridge, v. 15, n. 7, p. 469-476, 1993.
- KNOWLES, B. H.; ELLAR, D. J. Colloid-osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins with different insect specificity, **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 924, p. 509–518, 1987.
- KOZIEL, M. G.; BELAND, G. L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N. B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAND, L.; DAWSON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; LEWIS, K.; MADDOX, D.; MCPHERSON, K.; MEGHJI, M. R.; MERLIN, RHODES, E. R.; WARREN, G. W.; WRIGHT, M.; EVOLA, S. V. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Nature Biotechnology**, v. 11, p. 194–200, 1993.
- KRUGER, M. J.; VAN RENSBURG, J. B. J.; VAN DEN BERG, J. Perspective on the development of stem borer resistance to Bt maize and refuge compliance at the Vaalharts irrigation scheme in South Africa. **Crop Protection**, v. 28, p. 684–689, 2009.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LAMBERT, B.; PEFEROEN, M. Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*. **BioScience**, Washington, v. 42, n. 2, p. 112-122, 1992.
- LARSON, L. V.; IGNOFFO, C. M. Activity of *Bacillus thuringiensis*, varieties thuringiensis and galleriae, against fall cankerworm. **Journal of Economic Entomology**, v. 64, n. 6, p. 1567-1568, 1971.
- LEE, M. K.; MILES, P.; CHEN, J. Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 339, p. 1043–1047, 2006.
- LEE, M. K.; RAJAMOHAN, F.; GOULD, F.; DEAN, D. H. Resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1A δ -endotoxin in a laboratory-selected *Heliothis virescens* strain is related to receptor alteration. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, p.3836-3842, 1995.
- LEE, M. K.; WALTERS, F. S.; HART, H.; PALEKAR, N.; CHEN, J. S. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab δ -endotoxin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 4648-4657, 2003.

LEMES, A. R. N.; DAVOLOS, C. C.; CRIALESI-LEGORI, P. C. B.; FERNANDES, O. A.; FERRÉ, J.; LEMOS, M. V. F.; DESIDÉRIO, J. A. Synergism and Antagonism between *Bacillus thuringiensis* Vip3A and Cry1 Proteins in *Heliothis virescens*, *Diatraea saccharalis* and *Spodoptera frugiperda*. **PLOS ONE**, v. 9, p.1-8, 2014.

LEWIS, F. B.; DUBOIS, N. R.; GRIMBLE, D.; METTERHOUSE, W.; QUIMBY, J. Gypsy moth: efficacy of aerially-applied *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 67, n. 3, p. 351-354, 1974.

LI, H.; BOUWER, G. Evaluation of the synergistic activities of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 121, p. 7–13, 2014.

LI, J.; CARROL, J.; ELLAR, D. J. Crystal structure of insecticidal d-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 Å resolution. **Nature**, v. 353, p. 815–821, 1991.

LIANG, Y.; PATEL, S. S.; DEAN, D. H. Irreversible binding kinetics of *Bacillus thuringiensis* CryIA -endotoxins to gypsy moth brush border membrane vesicles is directly correlated to toxicity. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, p. 24719–24724, 1995.

LIGHTWOOD, D. J.; ELLAR, D. J.; JARRETT, P. Role of proteolysis in determining potency of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac delta-endotoxin. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, p. 5174-5181, 2000.

LIU, F.; XU, Z.; ZHU, Y. C.; HUANG, F.; WANG, Y.; LI, H.; GAO, C.; ZHOU, W.; SHEN, J. Evidence of field-evolved resistance to Cry1Ac-expressing Bt cotton in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) in northern China. **Pest Management Sciences**, 66, 155– 161, 2010.

LIU, J.; YANG, A.; SHEN, X.; HUA, B.; SHI, G. Specific binding of activated Vip3Aa10 to *Helicoverpa armigera* brush border membrane vesicles results in pore formation. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 108, p. 92–97, 2011.

LOGUERCIO, L. L.; BARRETO, M. L.; ROCHA, T. L.; SANTOS, C. G.; TEIXEIRA, F. F.; PAIVA, E. Combined analysis of supernatant-based feeding bioassays and PCR as a first-tier screening strategy for Vip-derived activities in *Bacillus thuringiensis* strains effective against tropical fall armyworm. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 269-277, 2002.

MACEDO, C. L.; MARTINS, E. S.; MACEDO, L. L. P.; SANTOS, A. C.; PRAÇA, L. B.; GÓIS, L. A.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* eficientes contra a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1759-1765, 2012.

MAIA, A. H. N. **Modelagem da evolução da resistência de pragas a toxinas Bt expressas em culturas transgênicas: quantificação de risco utilizando análise de incertezas**. 2003. 130 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MALIK, K.; RIAZUDDIN, S. A.; RIAZUDDIN, S. Identification, purification, cloning and expression of a novel receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry1a delta-endotoxins in the Brush Border Membranes of the *Helicoverpa Armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 3, p. 767-778, 2006.

MARUCCI, S. C.; FIGUEIREDO, C. S.; TEZZA, R. I. D.; ALVES, E. C. C.; LEMOS, M. V. F.; DESIDÉRIO, J. A. Relação entre toxicidade de proteínas Vip3Aa e sua capacidade de ligação a receptores intestinais de lepidópteros-praga. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 637-648, 2015.

MENDES, D. R. P. **Expressão dos genes vip3Aa e cry1la em *Escherichia coli* efetivos no controle de *Spodoptera frugiperda***. 2011. 59p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2011.

MENDONÇA, A. F. Guia das principais pragas da cana-de-açúcar In MENDONÇA, A.F. (Ed.). **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceio: Insetos & Cia, 1996. p. 3-48.

MILNE, R.; LIU, Y.; GAUTHIER, D.; VAN FRANKENHUYZEN, K. Purification of Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis* HD-1 and its contribution to toxicity of HD-1 to spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) and gypsy moth (*Lymantria dispar*) (Lepidoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 99, p.166–172, 2008.

MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: Manole, 1986. p.297-310.

MORALES, L.; MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PARO, F. E.; SOLDORIO, I. L. Suscetibilidade de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* (Berliner). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p. 593-598, 1995.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, C. D.; DALLACORT, R.; ZORZENONI, T. O.; ZACCHEO, P. V. C.; OLIVEIRA, C. F. N.; CONCEIÇÃO, H. E. O.; LOBATO, A. K. S. Agronomic efficiency of *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize hybrids in pests control on Lucas do Rio Verde city, State of Mato Grosso, Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, p. 2232-2239, 2013.

- OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50-54, 2014.
- PACHECO, S.; GÓMEZ, I.; GILL, S. S.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. Enhancement of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins by fragments of a toxin-binding cadherin correlates with oligomer formation. **Peptides**, v. 30, p. 583–588, 2009.
- PALMA, L.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; MAEZTU, M.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; ESCUDERO, I. R.; ESCRICHE, B.; et al. Vip3C, a Novel Class of Vegetative Insecticidal Proteins from *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 7163–7165, 2012.
- PALMA, L.; MUÑOZ, D.; BERRY, C.; MURILLO, J.; CABALLERO, P. *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. **Toxins**, v. 6, p. 3296-325, 2014.
- PARDO-LÓPEZ, L.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. **FEMS Microbiology Letters**, v. 37, p.3–22, 2013.
- PEREZ, J. R.; VAN KHU, N.; THI VAN, T.; CASTRO, S. Enfermedades y plagas de la cana de azúcar en la Republica Socialista de Viet-nam. **Ciencias de la Agricultura**, n. 6, p. 156-158, 1980.
- PERLAK, F. J.; DEATON, R. W.; ARMSTRONG, T. A.; FUCHS, R. L.; SIMS, S. R. Insect resistant cotton plants. **Biotechnology**, v. 8, p. 939–943, 1990.
- PINTO, A. S. **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006. 64p.
- PINTO, A. S.; MACHADO, P. S.; OLIVEIRA, H. N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2009. 160p.
- POLANCZYK, R.; VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Eds) **Controle Microbiano de pragas na America Latina**. 3 ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), 2012. p. 111– 136.
- QUESADA-MORAGA, E.; GARCIA-TOVAR, E.; VALVERDE-GARCIA, P.; SANTIAGO-ALVAREZ, C. Isolation, geographical diversity and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* from soils in Spain. **Microbiological Research**, v.159, n.1, p.59-71, 2004.
- RAJAGOPAL, R.; AGRAWAL, N.; SELVAPANDIYAN, A.; SIVAKUMAR, S.; AHMAD, S.;

BHATNAGAR, R. K. Recombinantly expressed isoenzymic aminopeptidases from *Helicoverpa armigera* (American cotton bollworm) midgut display differential interaction with closely related *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. **Biochemical Journal**, v. 370, p. 971–978, 2003.

RANG, C.; BERGVINGSON, D.; BOHOROVA, N.; HOISINGTON, D.; FRUTOS, R. Competition of *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins for midgut binding sites: a basis for the development and management of transgenic tropical maize resistant to several stemborers. **Current Microbiology**, v. 49, p. 22-27, 2004.

RAZA, G.; ALI, K.; MUKHTAR, Z.; MANSOOR, S.; ARSHAD, M. The response of sugarcane (*Saccharum officinarum* L) genotypes to callus induction, regeneration and different concentrations of the selective agent (geneticin -418). **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.8739-8747, 2010.

ROGOFF, M. H.; YOSTEN, A. A. *Bacillus thuringiensis*: microbiological considerations. **Annual Review Microbiology**, v. 23, p. 357-386, 1969.

ROUSH, R. T. Two-toxins strategies for management of insecticidal transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 353, p. 1777–1786, 1998.

SANAHUJA, G.; BANAKAR, R.; TWYMAN, R.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal**, v. 9, p. 283–300, 2011.

SANCHIS V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 31, p. 217–231, 2011.

SAUER, H. F. G. Notas sobre *Elasmopalpus lignosellus* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), séria praga dos cereais no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 10, p. 199-206, 1939.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 62, p. 775-806, 1998.

SENA, J. A. D.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; FERRE, J. Interaction of *Bacillus thuringiensis* Cry1 and Vip3A Proteins with *Spodoptera frugiperda* Midgut Binding Sites. **Applied and Environmental Microbiology**, v.75, p.2236–2237, 2009.

SENDRA, S. H. **Los receptores de las toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* y sus implicaciones en el desarrollo de resistencia**. 2002. 111p. Tese (Doutorado) -. Facultat de Ciències Biològiques – Universitat Burjassot, València, Espanha, 2002.

SHIMADA, N.; MIYAMOTO, K.; KANDA, K.; MURATA, H. Binding of Cry1Ab toxin, a *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxin to proteins of the bovine intestinal epithelial cell: An in vitro study. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, v.42, n.1-2, p.45–49, 2006.

SILVA, L. M. **Caracterização molecular e atividade de isolados de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) para as brocas da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae)**. 2013. 51p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

SINGSIT, C.; ADANG, M. J.; LYNCH, R. E.; ANDERSON, W. F.; WANG, A.; CARDINEAU, G.; OZIAS-AKINS, P. Expression of a *Bacillus thuringiensis cryIA(c)* gene in transgenic peanut plants and its efficacy against lesser cornstalk borer. **Transgenic Research**, v. 6, p. 169–176, 1997.

SIVASUPRAMANIAM, S.; MOAR, W. J.; RUSCHKE, L. G.; OSBORN, J. A.; JIANG, C.; SEBAUGH, J. L.; BROWN, G. R.; SHAPPLEY, Z. W.; OPPENHUIZEN, M. E.; MULLINS, J. W.; GREENPLATE, J. T. Toxicity and characterization of cotton expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins for control of lepidopteran pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 101, p. 546–554, 2008.

SOBERON, M.; PARDO, L.; MUNOZ-GARAY, C.; SANCHEZ, J.; GOMEZ, I.; PORTA, H.; BRAVO, A. Pore formation by Cry toxins. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 677, p. 127–142, 2010.

SRIKANTH, J.; SUBRAMONIAN, N.; PREMACHANDRAN, M. Advances in transgenic research for insect resistance in sugarcane. **Tropical Plant Biology**, v. 4, p. 52–61, 2011.

STEWART, S. D.; ADAMCZYK, J. J. JR.; KNIGHTEN, K. S.; DAVIS, F. M. Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, p. 752–760, 2001.

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; JAMES, W. B.; HUCKABA, R. M. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1031–1038, 2010.

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

SYNGENTA PARTICIPATIONS AG. LONG, N.; BOTTOMS, J.; MEGHJL, M.; HART, H.; QUE, Q.; PULLIAM, D. **Corn Event MIR162**. US 8,232,456 B2, 3 dez. 2009, 31 jul. 2012.

TABASHNIK, B. E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, p. 510–521, 2013.

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

TABASHNIK, B. E.; LIU, Y. B.; de MAAGD, R. A.; DENNEHY, T. J. Cross-resistance of pink bollworm (*Pectiniphora gossypiella*) to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, p. 4582–4584, 2000.

TABASHNIK, B. E.; MALVAR, T.; LIU, Y.; FINSON, N.; BORTHAKUR, D.; SHIN, B.; PARK, S. H.; MASSON, L.; DE MAAGD, R. A.; BOSCH, D. Cross-resistance of the diamondback moth indicates altered interactions with domain II of *Bacillus thuringiensis* toxins. **Applied Environmental Microbiology**, v. 62, p. 2839–2844, 1996.

TABASHNIK, B. E.; MOTA-SANCHEZ, D.; WHALON, M. E.; HOLLINGWORTH, R. M.; CARRIÈRE, Y. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 496–507, 2014.

TAN, S. Y.; CAYABYAB, B. F.; ALCANTARA, E. P.; IBRAHIM, Y. B.; HUANG, F.; BLANKENSHIP, E. E.; SIEGFRIED, B. Comparative susceptibility of *Ostrinia nubilalis* and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins. **Crop Protection**, v. 30, p. 1184–1189, 2011.

VAECK, M.; REYNAERTS, A.; HOFTE, H.; JANSENS, S.; DE BEUCKELEER, M.; DEAN, C.; ZABEAU, M.; MONTAGU, M. V.; LEEMANS, J. Transgenic plants protected from insect attack. **Nature**, v. 328, p. 33–37, 1987.

VALADARES-INGLIS, M. C. C.; SHILER, W.; SOUZA, M. T. de. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 1, p.201-230, 1998.

VAN FRANKENHUYZEN, K.; NYSTROM, C. 2002. The *Bacillus thuringiensis* toxin specificity database. <<http://www.glfcc.forestry.ca/bacillus/>>.

VAN RENSBURG, J. B. J. First report of field resistance by stem borer, *Busseola fusca* (Fuller) to Bt-transgenic maize. **South African journal of plant and soil Abbreviation**, v. 24, p. 147–151, 2007.

VAN RIE, J. *Bacillus thuringiensis* and its use in transgenic insect control technologies. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 290, p. 463–469, 2000.

VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; HÖFTE, H.; DEGHEELE, D.; VAN MELLAERT, H. Specificity of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins: Importance of specific receptors on the brush border membrane of the midgut of target insects. **European Journal of Biochemistry**, v.186, p.239-247, 1989.

VÉLEZ, A. M.; SPENCER, T. A.; ALVES, A. P.; MOELLENBECK, D.; MEAGHER, R. L.; CHIRAKKAL, H.; SIEGFRIED, B. D. Inheritance of Cry1F resistance, cross-resistance and frequency of resistant alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 103, p. 700-13, 2013.

VIANA, P. A. Lagarta-elasma. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. Pragas de solo no Brasil. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Dourados: **Embrapa Agropecuária Oeste**; Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, p. 379-408, 2004.

VIANA, P. A.; CRUZ, I.; WAQUIL, J. M. Danos da lagarta-elasma à cultura do milho e medidas para o seu controle. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2000, 3p. (Comunicado Técnico/ Embrapa Milho e Sorgo, 1518-4269, n. 20).

VILELLA, F. M. F.; WAQUIL, J. M.; VILELA, E. F.; SIEGFRIED, B. D.; FOSTER, J. E. Selection of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) for survival on Cry 1A(b) Bt toxin. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 1, n. 3, p. 12-17, 2002.

WACLAWOVSKY, A. J.; SATO, P. M.; LEMBKE, C. G.; MOORE, P. H.; SOUZA, G. M. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v.8, p.263-276, 2010.

WAQUIL, J. M.; VILLELA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas**, v. 1, n. 3, p. 1-11, 2002.

WEI, J. Z.; HALE, K.; CARTA, L.; PLATZER, E.; WONG, C.; FANG, S.; AROIAN, R. V. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 5, p. 2760-2765, 2003.

WENG, L. W.; DENG, H.; XU, J. L.; LI, Q.; ZHANG, Y. Q.; JIANG, Z. D.; LI, Q. W.; CHEN, J. W.; ZHANG, L. H. Transgenic sugarcane plants expressing high levels of

modified *cry1Ac* provide effective control against stem borers in field trials. **Transgenic Research**, v. 20, p. 759–772, 2011.

WHITELEY, H. R.; SCHINEPF, H. E. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Microbiology**, v. 40, p. 549-576, 1986.

WOLFERSBERGER, M. G.; LUETHY, P.; MAURER, A.; PARENTI, P.; SACCHI, V. F.; GIORDANA, B.; HANOZETA, G. M. Preparation and partial characterization of amino acid transporting brush border membrane vesicles from the larval midgut of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 86, p. 301-308, 1987.

WOLFERSBERGER, M.G. The toxicity of two *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins to gypsy moth larvae is inversely related to the affinity of binding sites on midgut brush border membranes for the toxins. **Experientia**, v. 46, p. 475– 477, 1990.

XU, X.; YU, L.; WU, Y. Disruption of a cadherin gene associated with resistance to Cry1Ac δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 948-954, 2005.

XU, Y.; YANG, Y.; WU, Y. Ligand blot analysis of Bt Cry1A toxin binding with the midgut brush border membrane vesicle receptors of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Acta Entomology**, v. 52, p. 153– 158, 2009.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agricultural pests. IN: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LE ROUX, C. (Edit.). **Etmopathogenic Bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2000. p. 81-100.

YU, C. G.; MULLINS, M. A.; WARREN, G. W.; KOZIEL, M. G.; ESTRUCH, J. J. The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, p.532-536, 1997.

ZHANG, H.; YIN, W.; ZHAO, J.; JIN, L.; YANG, Y.; WU, S.; TABASHNIK, B. E.; WU, Y. Early warning of cotton bollworm resistance associated with intensive planting of Bt cotton in China. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. 22874, 2011.

ZHANG, L.; HUANG, F.; LEONARD, R. B.; CHEN, M.; CLARK, T.; ZHU, Y. C.; WANGILA, D. S.; YANG, F.; NIU, Y. Susceptibility of Cry1Ab maize-resistant and susceptible strains of sugarcane 3 borer (Lepidoptera: Crambidae) to four individual Cry proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 112, p. 267-272, 2013.

ZHANG, X.; CANDAS, M.; GRIKO, N. B.; TAUSSIG, R.; BULLA, L. A., Jr. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, p.9897–9902, 2006.

ZHAO, J. Z.; CAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. L.; ROUSH, R. T.; EARLE, E. D.; ANTHONY SHELTON, M. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. **Nature Biotechnology**, v. 21, p. 1493–1497, 2003.