

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

**EFEITOS DE PROTEINAS Cry e VIP NOS PARÂMETROS
BIOLÓGICOS DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera
frugiperda* (Smith, 1797) E INJÚRIAS NAS PLANTAS DE
MILHO POR LEPIDÓPTEROS**

Jacob Crosariol Netto
Biólogo

2017

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

**EFEITOS DE PROTEINAS Cry e VIP NOS PARÂMETROS
BIOLÓGICOS DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera
frugiperda* (Smith, 1797) E INJÚRIAS NAS PLANTAS DE
MILHO POR LEPIDÓPTEROS**

Jacob Crosariol Netto

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Doniseti Michelotto

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 (Entomologia Agrícola).

Crosariol Netto, Jacob
C949e Efeito de proteínas Cry e VIP nos parâmetros biológicos de populações de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e injúrias nas plantas de milho por lepidópteros / Jacob Crosariol Netto. – – Jaboticabal, 2017
iv, 79 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Antonio Carlos Busoli
Banca examinadora: Julio Cesar Guerreiro, José Roberto Scarpellini, Raphael de Campos Castilho, Arlindo Leal Boiça Junior
Bibliografia

1. Lagarta-do-cartucho. 2. *Zea mays*. 3. *Bacillus thuringiensis*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:633.15

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFEITO DE PROTEÍNAS Cry E VIP NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE
POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) E
INJÚRIAS NAS PLANTAS DE MILHO POR LEPIDÓPTEROS

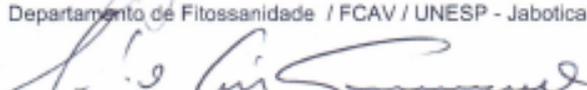
AUTOR: JACOB CROSARIOL NETTO

ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS BUSOLI

COORIENTADOR: MARCOS DONISETI MICHELOTTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

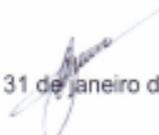

Prof. Dr. ANTONIO CARLOS BUSOLI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. JULIO CESAR GUERREIRO
Departamento de Agronomia / UEM - Câmpus Umuarama - Umuarama/PR


Pesquisador Dr. JOSÉ ROBERTO SCARPELLINI
REGIONAL CENTRO LESTE / APTA - Ribeirão Preto, SP


Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Jaboticabal, 31 de janeiro de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JACOB CROSARIOL NETTO – nascido em 08 de agosto de 1987 na cidade de Catanduva, Estado de São Paulo, filho de Maurilio Crosariol e Maria do Carmo Schiavi Crosariol. Iniciou os estudos na cidade de Pindorama, Estado de São Paulo, cursando o nível fundamental e médio na Escola Estadual Dr. Carlos Augusto Froelich, concluindo seus estudos no ano de 2004. No ano seguinte, ingressou no curso de Ciências Biológicas na Faculdade de Filosofia Ciência e Letras IMES - Catanduva, na cidade de Catanduva, Estado de São Paulo, concluindo seus estudos no ano de 2009. No ano de 2010 tornou-se Bacharel em Ciências Biológicas na Faculdade de Filosofia Ciências e Letras IMES – Catanduva. Em março de 2011 iniciou o Mestrado em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e desenvolveu o projeto da dissertação na linha de pesquisa em Entomologia Agrícola, sob orientação do Professor Dr. Antonio Carlos Busoli e Co-orientação do Pesquisador Científico Marcos Doniseti Michelotto, projeto concluído em fevereiro de 2013. Em março de 2013, iniciou o Doutorado em Agronomia pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” sob a orientação do Professor Dr. Antônio Carlos Busoli e Co-orientação do Dr. Marcos Donisti Michelotto. Durante os anos de 2013 e 2014 foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Em dezembro de 2014, ingressou no Instituto Mato-Grossense do Algodão para Pesquisa e Difusão de Tecnologias Agropecuárias em Primavera do Leste, MT, onde atua como Pesquisador Entomologista. Desenvolveu o projeto da Tese na linha de pesquisa em Manejo Integrado de Pragas do milho, cujos resultados estão descritos nesta Tese.

E-mail: jacob_netto@hotmail.com

DEDICO

Aos meus pais, **Maurílio Crosariol** e **Maria do Carmo Schiavi Crosariol**, e avôs, **Dilter José Schiavi** e **Idalina Palermo Schiavi** pelo apoio aos meus estudos, aos ensinamentos e pelo exemplo de vida, de carinho, de trabalho, de honestidade e de simplicidade.

OFEREÇO

À minha irmã **Fernanda Schiavi Crosariol**, pelo companheirismo e sorrisos de apoio em todas as ocasiões.

À minha noiva, **Daniela de Lima Viana** pelo apoio, companheirismo e dedicação em todos os momentos.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me permitir vencer mais uma batalha, por me dar a vida, saúde, disposição, paciência, e por me guiar e abençoar todos os dias da minha vida;

À **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias**, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela oportunidade de realização desse trabalho e a obtenção do título de Doutor;

Ao **Departamento de Fitossanidade** e aos professores e funcionários, por toda a infraestrutura fornecida;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pela concessão da Bolsa de Doutorado e ao Conselho do Programa de Pós-Graduação em **Entomologia Agrícola**, pela oportunidade e apoio;

À **Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA)**, ao **Instituto Agrônomo de Campinas (IAC)** e ao **Programa Milho e Sorgo**, pela disponibilização das áreas para realização dos experimentos;

Ao **Instituto Mato-grossense do Algodão** e a **Embrapa (Cenargem) Recursos Genéticos**, pelo apoio e pela estrutura laboratorial para realização dos experimentos;

À todos os **Professores** do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, pelos conhecimentos transmitidos;

Ao **Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli** (FCAV/UNESP), meu orientador e amigo, profissional de grandiosa experiência e dedicado à ciência, a minha gratidão pelo suporte intelectual, disponibilidade, prudência e confiança em mim depositada;

Ao **Dr. Marcos Doniseti Michelotto** meu coorientador, pela atenção e disponibilidade em todos os momentos para realização dos meus trabalhos dentro da APTA, e por ser a pessoa que me iniciou profissionalmente na área da Entomologia.

Ao **Dr. Aildson Pereira Duarte** pesquisador e coordenador do Programa Milho e Sorgo do IAC – APTA, pelo fornecimento das sementes dos genótipos de milho.

Aos meus **Padrinhos Tania Piscinini Machado e Marco Antonio Machado**, por estarem presentes nas páginas de minha história, pelo amor, companheirismo, compreensão e confiança em todas as etapas da minha vida.

À **Maria Rejane de Lima**, pelo incentivo, apoio, pela força, carinho e orações durante todo este período.

Aos amigos da **APTA Centro Norte, Everton Luis Finoto, Willians Cesar Carrega, Eduardo Prado Lamana, Melina Zacarelli Pirotta e Tamiris Souza Marion**, pela ajuda na coleta de dados e também pelos momentos de descontração.

À todos os funcionários do Departamento de Fitossanidade, em especial à **Lígia Dias Tostes Fiorezzi** e ao **Alex Antonio Ribeiro** pela disposição em ajudar a qualquer momento;

Aos amigos e companheiros do laboratório e da vida **José Fernando Jurca Grigolli, Mirian Maristela Kubota, Letícia Serpa dos Santos, Leandro Aparecido de Souza, Diego Felisbino Fraga, Marina Funichello, Juliana Nais, Oniel Jeremías Aguirre Gil, Roseli Pessoa e Luan Odorizzi** pela ótima convivência e também pelos bons momentos de descontração;

À toda equipe e amigos do **Instituto Mato-grossense do Algodão, Alvaro Lourenço Ortolan Salles, Jean Louis Bellot, Eduardo Moreira Barros, Edson Ricardo de Andrade Júnior, Alberto Souza Bolt, Érica S. Martins Queiroz, Paulo R. Martins Queiroz, Carlos Marcelo Soares, Alberto Souza Bolt, Bruno Bento**

Batista, Lucas Ribeiro de Queiroz, Isabella Martins Souza, Nayara Aparecida Pinho Calaça, pela amizade, incentivo e incansável parceria na condução dos inúmeros trabalhos desenvolvidos;

À todos, e foram muitos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
SUMMARY	iv
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura	3
2.1. Cultivo do milho: aspectos gerais	3
2.2. Lagarta-do-cartucho, <i>Spodoptera frugiperda</i> (SMITH, 1797) e lagarta-da-espiga <i>Helicoverpa zea</i> (Boodie, 1850) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	4
2.3. Milho geneticamente modificado e insetos resistentes a biotecnologia	7
3. Referências	11
CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE MILHO BT EM RELAÇÃO AO ATAQUE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> E <i>Helicoverpa zea</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO ESTADO DE SÃO PAULO	17
Resumo	17
Abstract	18
1. Introdução	19
2. Material e Métodos	20
3. Resultados e Discussão	24
4. Conclusões.....	37
5. Referências	38
CAPÍTULO 3 – EFEITO DE PROTEÍNAS Cry e VIPTERA EXPRESSAS EM HÍBRIDOS DE MILHO Bt NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE POPULAÇÕES DE <i>Spodoptera frugiperda</i> COLETADAS EM QUATRO REGIÕES DO ESTADO DE SÃO PAULO	41
Resumo	41
Abstract	42

1. Introdução	43
2. Material e Métodos	44
2.1. Descrição do local de cultivo.....	44
2.2. Criação de manutenção de populações de <i>Spodoptera frugiperda</i>	45
2.3. Parâmetros biológicos de quatro populações de <i>Spodoptera frugiperda</i> criadas em diferentes híbridos de milho.....	46
2.3.1. Fases de larva e de pupa.....	47
2.3.2. Fase adulta.....	48
2.4. Delineamento e análise estatística.....	48
3. Resultados e Discussão	49
4. Conclusões	72
5. Referências.....	73
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78

EFEITO DE PROTEÍNAS Cry E VIP NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797), E INJÚRIAS NAS PLANTAS DE MILHO CAUSADAS POR LEPIDÓPTEROS.

RESUMO – A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* é a principal praga da cultura do milho nas regiões tropicais e subtropicais do continente americano. Dentre os métodos mais utilizados para o controle desta praga no Brasil, destaca-se o uso de plantas geneticamente modificadas a partir da inserção de um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* que confere a planta a expressão de proteínas com ações inseticidas. No entanto, durante dois ou três anos estas tecnologias reduziram o grau de supressão às lagartas, principalmente pelo uso contínuo e inadequado da tecnologia. O objetivo deste trabalho foi estudar em condições de campo, o comportamento de híbridos de milho Bt frente ao ataque de lepidópteros, como a *S. frugiperda* e *Helicoverpa zea*, em quatro regiões produtoras de milho do estado de São Paulo, bem como estudar em condições de laboratório a biologia comparada de populações de *S. frugiperda* coletadas nestas regiões. Os experimentos de campo foram realizados no período da segunda safra de milho, no ano de 2014, nas regiões do Médio Paranapanema, Centro Norte, Noroeste e Norte do estado de São Paulo, onde foram utilizados 25 cultivares de milho com expressão de diferentes proteínas inseticidas. Para o estudo de biologia comparada foi realizada a coleta de lagartas nas quatro regiões do estado, as lagartas foram enviadas ao laboratório de Manejo Integrado de Pragas da FCAV-Unesp onde foram realizados os experimentos com folhas de híbridos de milho de diferentes tecnologias. Os resultados dos experimentos realizados a campo demonstram que a proteína inseticida VIP3Aa20 apresenta alto nível de supressão sobre as populações de *S. frugiperda* e *Helicoverpa zea*, além disso, os híbridos de milho que expressam a proteína inseticida Cry1F foram os mais suscetíveis frente ao ataque destas duas pragas. Através dos resultados obtidos para os experimentos de biologia comparada, constatou-se que a proteína inseticida VIP3Aa20 proporcionou 100% de mortalidade das lagartas oriundas das quatro regiões. O híbrido com expressão das proteínas Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F foi o que proporcionou menor viabilidade de lagartas de *S. frugiperda* oriundas das quatro regiões do estado. O híbrido que expressa a proteína inseticida Cry1F proporcionou baixos níveis de supressão além de baixos efeitos adversos no desenvolvimento de *S. frugiperda* oriundas das quatro regiões do estado, indicando que as populações presentes nestas quatro regiões se encontram resistentes a ação desta proteína inseticida.

Palavras-Chave: lagarta-do-cartucho; *Zea mays*; *Bacillus thuringiensis*

**EFFECT OF Cry AND VIP PROTEINS IN THE BIOLOGY OF POPULATIONS
OF *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797), AND ON INJURIES IN MAIZE
PLANTS CAUSED BY LEPIDÓPTEROS.**

SUMMARY – The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* is the major pest of corn in tropical and subtropical regions in the American Continent. Among the most used methods to control this pest in Brazil, it highlights the use of genetically modified plants from the insertion of a *Bacillus thuringiensis* gene that confers to the plant the expression of proteins with insecticidal actions. However, after two or three years these technologies reduce the degree of suppression of larvae, mainly due to the continuous and inadequate use of the technology. The objective of this work was to study in field conditions, the behavior of Bt corn hybrids against lepidopteran attacks as *S. frugiperda* and *Helicoverpa zea* in four corn-producing regions of São Paulo State, as well as to study in laboratory conditions the comparative biology of populations of *S. frugiperda* collected in these regions. Field experiments were carried out during the second corn season in 2014 in the regions of Médio Paranapanema, Centro Norte, Noroeste and Norte of São Paulo State where were used 25 corn cultivars with the expression of different insecticidal proteins. To the comparative biology study, the larvae were collected in the four regions of the state, the larvae were sent to Integrated Pest Management Laboratory of FCAV-Unesp where the experiments were carried out with leaves of corn hybrids of different technologies. The results of field experiments demonstrate that the insecticidal protein VIP3Aa20 presents a high level of suppression on the populations of *S. frugiperda* and *H. zea*, in addition, the corn hybrids that express the insecticidal protein Cry1F were the most susceptible against the attack of these two pests. Through the results obtained from the experiments of comparative biology, it was verified that the insecticidal protein VIP3Aa20 provided 100% of mortality of larvae from the four regions. The hybrid with expression of the proteins Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F was the one that provided low viability of *S. frugiperda* larvae coming from the four regions of the São Paulo State. The hybrid that expresses the insecticidal protein Cry1F provided low levels of suppression as well as low adverse effects in the development of *S. frugiperda* coming from the four regions of the state, indicating that the populations present in these four regions are resistant to the action of this insecticidal protein.

Keywords: fall armyworm, *Zea mays*, *Bacillus thuringiensis*

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância no cenário mundial, por ser uma fonte rica em carboidratos, proteínas e óleo, sendo matéria prima de produtos e subprodutos utilizados de forma direta ou indireta na alimentação humana e animal. No Brasil, o cultivo desse cereal na safra 2015/2016 apresentou produção total de 66,9 milhões de toneladas, levando-se em conta os períodos da safra e da safrinha, com uma produtividade média de 4.207 Kg ha⁻¹ (CONAB, 2016).

Um dos principais fatores que comprometem o rendimento e a qualidade da produção desta cultura é a incidência de pragas. Segundo Waquil et al. (2008) os prejuízos anuais causados pelo complexo de pragas na cultura do milho no Brasil chegam a cerca de dois bilhões de reais. Dentre as pragas destacam-se os lepidópteros como a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797), a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (DUARTE et al. 2007; CRUZ et al., 2010).

Pelas características biológicas, injúrias causadas e dificuldade de controle químico, a principal praga da cultura é a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*, cujos danos estendem-se por todos os estádios de desenvolvimento da planta, principalmente durante a formação do “cartucho”, onde o inseto se aloja, diminuindo a eficiência do controle químico. Estima-se que a redução nos rendimentos das plantas causados pela praga varia de 15 a 34% (CRUZ; TURPIN, 1983; CRUZ, 1995; FIGUEIREDO et al., 2006). Segundo Cruz et al. (1999), as perdas estimadas nos anos 90, em função das infestações de *S. frugiperda*, no Brasil, eram da ordem de 400 milhões de dólares por ano, e segundo Waquil et al. (2002), no início do século XXI, os prejuízos causados por esta praga na cultura do milho chegam à cerca 500 milhões de dólares anuais.

Nos últimos anos, com o advento da biotecnologia foi desenvolvida uma nova tática de controle de pragas, que consiste nas plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos, principalmente lepidópteros. Através de apuradas técnicas de laboratório, genes de *Bacillus thuringiensis* Berliner 1715 (*Bt*) foram introduzidos em

plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo alto padrão de resistência das plantas à algumas espécies alvos de lepidópteros-pragas (ARMSTRONG et al., 1995). Os genes cry introduzidos codificam a expressão de proteínas Cry nas partes das plantas, e quando presentes no sistema digestivo dos insetos apresentam ação inseticida, causando a morte de lepidópteros, como *S. frugiperda* (LYNCH et al., 1999; BARRY et al., 2000; BUNTIN et al., 2001; HUANG et al., 2002).

No Brasil, o primeiro evento comercial de milho transgênico resistente a inseto comercializado foi o MON810, tecnologia conhecida comercialmente como YieldGard® que expressa a proteína inseticida Cry1Ab. Os híbridos desta tecnologia foram liberados comercialmente no ano de 2007, e no ano seguinte, foi liberado o evento TC1507, denominado comercialmente como Herculex®, que confere às plantas a expressão da proteína inseticida Cry1F. No Brasil estes híbridos de milho foram comercialmente disponíveis a partir da safra 2009/2010 (DOW AGROSCIENCES INDUSTRIAL LTDA, 2008; STORER et al., 2012).

Ao longo dos anos, diversos estudos sob condições de campo como os de (MICHELOTTO et al., 2008, 2013; LOURENÇÃO; FERNANDES 2013; WAQUIL et al., 2013; MORAES et al., 2015) têm sido realizados demonstrando a alta eficiência de controle de lagartas em híbridos de milho Bt, por alguns anos de cultivo. Entretanto, nas últimas safras, alguns híbridos Bt disponíveis no mercado, apresentam sérios problemas com relação à eficiência na supressão populacional de lepidópteros-praga. Em alguns estados como Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, as primeiras tecnologias liberadas comercialmente estão apresentando baixa porcentagem de controle (CZEPAK et al., 2013), necessitando de programas de pulverizações de inseticidas de modo semelhante aos híbridos convencionais.

Devido a este problema de uso intenso da mesma tecnologia Bt e consequente seleção de populações resistentes de lepidópteros em algumas regiões de cultivo, há a necessidade de realizar experimentos com o objetivo de verificar a resposta de híbridos de milho Bt de diferentes tecnologias, frente ao ataque de *S. frugiperda* em áreas de produção de milho do estado de São Paulo, bem como determinar os efeitos das diferentes proteínas inseticidas sobre as fases biológicas do ciclo de vida de populações de *S. frugiperda* oriundas destas regiões produtoras de milho e com

técnicas culturais não adequadas ao uso de plantas geneticamente modificadas. Como a falta de refúgio, não disponibilidade de sementes não Bt e principalmente o uso intensivo de inseticidas em áreas de refúgio.

2. Revisão de literatura

2.1. Cultura do milho: aspectos gerais

O milho é uma espécie diplóide e alógama, pertencente à família Poaceae (Gramineae), Subfamília Panicoidae, tribo Maydeae, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L., domesticado aproximadamente de sete a dez mil anos atrás no México e na América Central. É uma planta herbácea, monóica, com os dois sexos na mesma planta em inflorescências diferentes (PATERNIANI; CAMPOS, 1999), completa seu ciclo em quatro a cinco meses caracterizando uma planta anual (PONS; BRESOLIN, 1981).

É considerada uma das plantas cultivadas mais antigas e um dos vegetais superiores mais estudados, possuindo caracterização genética mais detalhada dentre as espécies cultivadas (GUIMARÃES, 2007) e a “planta da civilização” por excelência das Américas (CARNEIRO, 2003; MACHADO, 2011). É o principal produto consumido e comercializado no México e na América Central, sendo ainda, a base alimentar na Colômbia, Venezuela e Região Andina, bem como em alguns países Caribenhos (FAOSTAT, 2011).

No Brasil, a cultura assume importância econômica e social, na geração de empregos nas zonas urbana e rural, e por fornecer produtos largamente utilizados na alimentação humana, tanto na forma “in natura” como processada, como pães, farinha e massas, bem como para a alimentação animal, ração ou silagem (FANCELLI; DOURADO NETTO, 2004; DUARTE et al., 2010).

Os diferentes usos dos derivados de milho estendem-se às aplicações industriais e farmacêuticas, podendo ser usado para produzir etanol de amido, plásticos, e como base para a produção de antibióticos (HUANG; BIRCH; GEORGE, 2006; PAES, 2008). O milho é matéria prima de expressiva importância para o uso

industrial e atualmente está sendo utilizado como fonte de bioenergia, em alguns países, com destaque para os EUA.

No Brasil este grão é o segundo produto mais cultivado, com cerca de 84,6 milhões de toneladas, produzidas em uma área de aproximadamente 15,7 milhões de hectares (CONAB, 2016) e a produção de milho no Brasil, tem se caracterizado pela divisão em duas épocas de semeadura, a safra de verão ou primeira safra e a safra de inverno ou safrinha. A semeadura de verão é realizada no início do período chuvoso, que varia entre fins de agosto, na região Sul, até os meses de outubro/novembro na região Sudeste e Centro-Oeste. Já a semeadura da segunda safra, ou chamada popularmente de safrinha, é realizada nos meses de fevereiro ou março, quase sempre imediatamente após a colheita da soja precoce, predominantemente na região Centro-Oeste e no Sudeste, nos estados do Paraná e São Paulo (EMBRAPA, 2009).

Grande parte do cultivo de milho no Brasil é realizado em sistema de semeadura direta, e as condições deste sistema foram modificadas, pois não há o processo de gradagem e subsolagem do solo, com isso os distúrbios mecânicos no solo foram reduzidos, predominando à permanência dos restos culturais e sementes sobre a sua superfície, podendo favorecer a ocorrência de algumas pragas, nas plantas “tigueras” ou remanescentes.

Um dos fatores que podem comprometer o rendimento e a qualidade da produção é a incidência de pragas. Dentre os insetos-pragas encontrados na cultura do milho, destaca-se a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), umas das mais importantes, devido à sua voracidade alimentar e a dificuldade de controle, as quais podem determinar prejuízos à lavoura e à produção, ocasionando danos econômicos consideráveis na cultura do milho.

2.2. Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae)

A família Noctuidae inclui o maior número de espécies de importância agrícola dentro da Ordem Lepidoptera (SPECHT et al., 2004). Dentre os insetos pertencentes a essa família, *S. frugiperda* é uma das principais espécies insetos-praga na cultura

do milho e outras gramíneas, no entanto, pode ter vários outros hospedeiros alternativos como: alface, almeirão, amendoim, batata doce, berinjela, café, citrus, couve, feijão, maracujá entre outras (SILVA et al., 1968). Trata-se de uma espécie nativa das Américas e distribuída a partir do Uruguai e norte da Argentina até a Flórida e Texas, no sul dos Estados Unidos, incluindo a América Central e Caribe (SPARKS, 1979; ASHLEY et al., 1989; NAGOSHI; MEAGHER, 2008).

Apesar dos avanços das pesquisas, *S. frugiperda* ainda é a praga que mais danifica a cultura do milho, não só no Brasil, mas em toda a América (CRUZ, 1995; WISEMAN et al., 1996; CRUZ et al., 1999; CARVALHO et al., 2010). Segundo Waquil et al. (2002), os prejuízos causados por esta praga na cultura do milho chegam a cerca de 500 milhões de dólares anuais.

Os adultos são mariposas de aproximadamente 35 a 40 mm de envergadura, de coloração pardo-escuro nas asas anteriores e branco acinzentado nas posteriores, podendo apresentar longevidade em torno de 12 dias. As asas anteriores do macho possuem manchas mais claras, diferenciando-o da fêmea. As posturas são caracterizadas sempre em massa de ovos e localizadas preferencialmente na face adaxial das folhas, em grupos de 50 a 300 ovos (ALVES et al., 1992; CRUZ et al., 1995; GALLO et al., 2002).

As lagartas recém-eclodidas são esbranquiçadas, possuem cápsula cefálica escura e mais larga do que o corpo e apresentam mais cerdas que as mais velhas. No primeiro ínstar as lagartas medem 1,9 mm de comprimento, com cápsula cefálica medindo 0,3 mm de largura. Já no último ínstar têm o corpo cilíndrico, de coloração marrom-acinzentado no dorso, esverdeado na parte ventral e subventral, que também apresenta manchas de coloração marrom-avermelhada (GALLO et al., 2002).

O comprimento do corpo de uma lagarta de quinto ínstar pode chegar a 50 mm e a largura da cápsula cefálica varia de 2,7 a 2,78 mm. A duração da fase larval é de 12 a 30 dias. Ao final do período larval, as lagartas penetram na superfície do solo, onde se transformam em pupas. Inicialmente a pupa é de coloração verde-clara com o tegumento transparente. Nesta fase o corpo é frágil e sensível a injúrias. Depois de alguns minutos a pupa torna-se alaranjada, passando à coloração marrom-avermelhada e próximo à emergência a pupa torna-se escura, quase preta. Seu comprimento atinge de 13 a 16 mm por 4,5 mm de diâmetro (CRUZ, 1995). O período

pupal é de 8 dias no verão, podendo chegar a 25 dias no inverno, após o qual ocorre a emergência dos adultos (GALLO et al., 2002).

Na cultura do milho os danos são caracterizados de acordo com o tamanho das lagartas, e logo no primeiro ínstar, iniciam sua alimentação raspando uma das faces da folha, deixando a epiderme do outro lado intacta. Por outro lado, as lagartas maiores começam a fazer orifícios na folha e quando passam para o quarto e quinto ínstars, podem destruir completamente o limbo foliar das folhas ainda novas que compõem o cartucho da planta, daí surgir o seu nome comum (CRUZ, 1995).

O período crítico do seu ataque ocorre quando as plantas estão próximas do florescimento, pois os danos são maiores e afetam a produtividade de grãos nas espigas. Em períodos de seca, especialmente na cultura do milho “safrinha”, suas populações aumentam, e no final do desenvolvimento das plantas podem também danificar a espiga, sendo que seu ataque ocorre preferencialmente pela lateral da espiga na região de contato desta com o colmo (GALLO et al., 2002). O ataque de *S. frugiperda* ocorre tipicamente no cartucho da planta; contudo, se a infestação ocorrer na fase inicial de desenvolvimento das plantas, as lagartas perfuram a base da planta, atingindo o ponto de crescimento, provocando morte da planta e conseqüentemente a redução do estande (MENDES et al., 2008).

Por não apresentar diapausa, *S. frugiperda* é uma praga de ocorrência sazonal nas áreas de clima temperado e, sob temperaturas mais altas, pode produzir até 13 gerações por ano no milho (AFONSO et al., 2009).

A lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boodie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto pertencente a subfamília Heliiothinae. É um inseto polífago e durante a fase larval se alimenta preferencialmente da estrutura reprodutiva das plantas e de várias culturas como: milho, trigo, algodão, soja, tomate, outras espécies de cereais, leguminosas e hortícolas (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1994; REIS, 2003).

Na cultura do milho tem sido constatado vários danos nas espigas ocasionados por esta espécie, pois além das lagartas se alimentarem dos estilo-estigmas na qual prejudica a fertilização e em conseqüência surgem falhas na formação das espigas, elas também se alimentam dos grãos leitosos destruindo a espiga, em conseqüência deixam orifícios que facilitam a entrada de microorganismos (GASSEN, 1996).

2.3. Milho geneticamente modificado e insetos resistentes a biotecnologia.

A utilização de inseticidas sintéticos tem sido o principal método de controle de pragas, porém seu uso indiscriminado e incorreto tem aumentado o número de aplicação e diminuindo sua eficiência. Seu uso se agrava também devido ao problema de contaminação dos produtos agrícolas, dos agricultores e do ambiente.

Historicamente, a principal medida de manejo de *S. frugiperda* no Brasil tem sido o controle químico (COSTA et al., 2005). Contudo, o comportamento larval de *S. frugiperda*, que se alimenta e se protege no cartucho das plantas de milho, limita significativamente a eficiência desse método de controle (WAQUIL, 2007).

Devido a estas limitações, dentre as táticas utilizadas para o controle de pragas está o uso de plantas geneticamente modificadas, sendo essa tecnologia lançada comercialmente nos EUA, em 1996, e com o tempo se difundiu com a utilização em outros países, como Canadá, Argentina, África do Sul, Espanha e França.

No Brasil, híbridos de milho Bt, foram inicialmente aprovadas para uso comercial em 2007, e a cada ano sua utilização tem aumentado, chegando na safra 2012/2013 a 12,5 milhões de hectares cultivados representando, cerca de 81,5% da área total plantada, considerando-se os dois períodos de plantio de milho, verão e safrinha (CÉLERES, 2013).

Através de apuradas técnicas de laboratório, um gene de *B. thuringiensis* (Bt) foi introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo alto padrão de resistência da planta a algumas espécies de lepidópteros-praga (ARMSTRONG et al., 1995). O gene introduzido codifica a expressão de proteínas Bt, com ação inseticida. As lagartas, ao se alimentarem do tecido foliar do milho geneticamente modificado, ingerem essa proteína, que atua nas células epiteliais do tubo digestivo dos insetos. A proteína promove a ruptura osmótica dessas células determinando a morte dos insetos, antes que os mesmos consigam causar danos significativos à cultura (GILL et al., 1992; MEYERS et al., 1997)

As principais vantagens do uso do milho geneticamente modificado, quando as populações do inseto alvo são suscetíveis às proteínas expressas são: redução na aplicação de inseticidas, principalmente inseticidas de largo espectro, e aumento na produtividade das plantas (HUANG et al., 2002). Além disso as toxinas são altamente

específicas e se ligam a diferentes receptores em diversas espécies de insetos. Algumas das proteínas Cry, como por exemplo a Cry1Ab apresentam toxicidade a mais de uma ordem de insetos, como lepidópteros, dípteros e coleópteros (PRAÇA et al., 2004). Além das toxinas na forma de cristais, várias cepas de *B. thuringiensis* também produzem outras endotoxinas, como as Cyt (PEREZ et al., 2005) e VIP (SELVAPANDIYAN et al., 2001).

Várias pesquisas foram realizadas avaliando a eficiência do milho geneticamente modificado no controle de determinadas pragas ao longo dos anos, principalmente no controle de *S. frugiperda*. Williams et al. (1997) realizaram bioensaios e testes de campo para avaliar diversos híbridos de milho modificado, contendo a toxina Cry1Ab, para a resistência à *S. frugiperda*. Os autores observaram baixa sobrevivência desta praga em dieta com tecido vegetal liofilizado dos híbridos de milho modificado, e em campo, estes híbridos apresentaram menores danos.

Buntin et al. (2001), nos Estados Unidos, avaliaram a eficácia de milhos geneticamente modificados (MON810 e BT11), que expressam a toxina Cry1Ab, no controle de *S. frugiperda*, em condições de infestação natural, na safra de 1998. Ambos os milhos consistentemente reduziram as infestações e danos nos cartuchos das plantas naquela safra.

Entretanto, segundo Mcgauhey e Whalon (1992), a expressão contínua de genes cry em plantas transgênicas, exerce forte seleção para o surgimento de resistência em populações de pragas-alvo. Essa evolução da resistência em populações de insetos-alvo pode reduzir os benefícios econômicos e ambientais dos cultivos transgênicos à base de Bt (FARIAS et al., 2014). Estudos realizados por Waquil et al. (2002) em condições de campo e com infestação artificial, para verificar a eficiência de nove híbridos de milhos geneticamente modificados expressando diferentes toxinas Cry, constataram que os híbridos com expressão da toxina Cry1F apresentaram-se como altamente resistentes, em relação ao híbrido com expressão da toxina Cry1Ab resistente, híbridos com Cry1Ac mostraram-se moderadamente resistentes e com Cry9C suscetíveis.

Afim de retardar a seleção de populações de insetos resistentes e ampliar o espectro de controle à outras pragas, os avanços na área de biotecnologia têm permitido o desenvolvimento de híbridos Bt que expressam mais de uma proteína

inseticida, técnica denominada de piramidação de genes, as quais frequentemente representam modos de ação únicos e independentes (MOAR; ANILKUMAR, 2007). Storer et al. (2012) constataram que a estratégia de piramidação de genes Bt é usualmente caracterizada por aumento no nível de proteção das plantas contra as pragas-alvo, desde que estas proteínas se liguem a receptores diferentes das células colunares do trato digestivo de lagartas.

Estudos realizados por Waquil et al. (2013), em campo e sob infestação natural, revelaram que o híbrido de milho DKB 390 transgênico com o evento piramidado que expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2, conferiu proteção contra *S. frugiperda* quando comparadas com o híbrido convencional, observando diferenças significativas quanto aos danos e à presença da praga, com variáveis mais baixas no híbrido com o evento piramidado.

As toxinas de Bt apresentam alta especificidade e, dentro do mesmo grupo de insetos, a atividade de cada toxina é diferenciada. Portanto, a estratégia de piramidação de dois ou mais genes cry, expressando diferentes toxinas numa mesma planta, não só contribui para o manejo da resistência, mas também aumenta a eficiência no controle de diferentes espécies de insetos-praga (CARNEIRO et al., 2009)

Dessa forma, caso essas premissas sejam atendidas, a piramidação de genes Bt pode retardar o estabelecimento de populações de insetos resistentes (HEAD; GREENPLATE, 2012). A inserção de proteínas ativas e eficientes para controlar lepidópteros-praga, quando combinadas, podem retardar a evolução da resistência em populações de insetos, em condições de campo (LEITE et al., 2011), e aumentar o espectro de ação da planta Bt (MANYANGARIRWA et al., 2006).

Para que estes avanços da biotecnologia sejam eficientes, o Manejo de Resistência de Insetos (MRI) é de grande importância com o intuito de retardar a evolução da resistência dos insetos-praga que são alvo desta tecnologia e prolongar a vida útil das proteínas inseticidas envolvidas. A necessidade dessa prática advém do consenso de que o cultivo do milho Bt em grandes áreas resultará na seleção de biótipos das pragas-alvo resistentes às toxinas Bt. De acordo com Maia (2010), um dos principais riscos ambientais associados às culturas transgênicas está no Manejo de Resistência de insetos ineficaz.

Embora existam recomendações suficientes para a prática do manejo de pragas na cultura do milho, os dados de campo sobre o uso dessas práticas são raros, mas sabe-se que, na maioria dos casos, ainda há muito a ser melhorado (CARNEIRO et al., 2009). O monitoramento da infestação das plantas também é importante, pois, dependendo do híbrido utilizado e da intensidade da infestação, o produtor pode precisar adotar medidas de controle complementares (CARNEIRO et al., 2009).

Portanto, objetivo deste trabalho foi verificar a resposta de híbridos de milho Bt de diferentes tecnologias, frente ao ataque de *S. frugiperda* em áreas de produção de milho do estado de São Paulo, bem como os efeitos das diferentes proteínas inseticidas sobre as populações de *S. frugiperda* oriundas destas regiões. Possibilitando um manejo mais sustentável e adequado desta praga.

3. Referências

- AFONSO, A.P.S.; WREGE, M.; MARTINS, J.F. da S.; NAVA, D.E. Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, p.607-612, 2009.
- ALVES, S. B.; ZUCCHI, R. A.; VENDRAMIM, J. D. **Pragas do milho, arroz, trigo e sorgo**. In: Curso de Entomologia Aplicada à Agricultura. Piracicaba: FEALQ, 1992. p. 273-310.
- ARMSTRONG, C.L.; PARKER, G.B.; PERSHING, J.C.; BROWN, S.M.; SANDERS, P.R.; DUNCAN, D.R.; STONE, T.; DEAN, D.A.; De BOER, D.L.; HART, J.; HOWE, A.R.; MORRISH, F.M.; PAJEAU, M.E.; PETERSEN, W.L.; REICH, B.J.; RODRIGUEZ, R.; SANTINO, C.G.; SATO, S.J.; SCHULER, W.; SIMS, S.R.; STEHLING, S.; TAROCHIONE, L.J.; FROMM, M.E. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Crop Science**, Madison, v.35, p.550-557, 1995.
- ASHLEY, T.R.; WISEMAN, B.R.; DAVIS, F.M.; ANDREWS, K.L. The fall armyworm: a bibliography. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 72, 152-202, 1989.
- BARRY, B.D.; DARRAH, L.L.; HUCKLA, D.L.; ANTONIO, A.Q.; SMITH, G.S.; O'DAY, M.H. Performance of transgenic corn hybrids in Missouri for insect control and yield. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.93, n.3, p.991-999, 2000.
- BUNTIN, G.D.; LEE, D.; WILSON, D.M.; McPHERSON, R.M. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidade) on corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.84, n.1, p. 37-42, 2001.
- CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; VALICENTE, F. H.; WAQUIL, J. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, N. P.; MENDES, S. M. Milho Bt: **Teoria e Prática da Produção de Plantas Transgênicas Resistentes a Insetos-Praga**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 26p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 135).
- CARNEIRO, H. **Comida e Sociedade: uma história da Alimentação**. Rio de Janeiro: Campus, 2003. 185 p.
- CARVALHO, E. V.; GONÇALVES, A. H.; AFFÉRI, F. S.; DOTT, M. A.; PELUZIO, J. M. Influência da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith), sobre híbridos de milho, no sul do Tocantins. **Revista Verde**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 152-157, 2010.
- CÉLERES. Informativo biotecnologia 2º acompanhamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2013/14. Disponível em: < <http://celeres.com.br/post.php?p=184&lang=pt> >. Acesso em 03/set. 2014.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: 12º Levantamento de grãos safra 2015/16.** v.3 p.184, 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_09_09_15_18_32_boletim_12_setembro.pdf.

COSTA, M.A.G.; GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F. DA S.; COSTA, E.C.; STORCH, G.; STEFANELLO JÚNIOR, G.J. Eficácia de diferentes inseticidas e de volumes de calda no controle de *Spodoptera frugiperda* nas culturas do milho e sorgo cultivados em várzea. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, p.1234-1242, 2005.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995. 45 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 21).

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; OLIVEIRA, A.C.; VASCONCELOS, C.A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminum saturation. **International Journal of Pest Management**, London, v.45, p.293-296, 1999.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Yield impact of larval infestations of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to midwhorl growth stage of corn. **Journal of Economic Entomology**, Salt Lake, v. 76, n.2, p.1052-1054, 1983.

CRUZ, I.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; VALICENTE, F. H. **Pragas: diagnóstico e controle.** In: COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de. *Seja o doutor do seu milho*. 2. ed. ampl. modif. Piracicaba: POTAFOS. p. 10-14. (Arquivo do agrônomo, 2). 1995.

CRUZ, J.C.; VIANA, J.H.M.; ALVARENGA, R.C.; PEREIRA FILHO, I.A.; SANTANA, D.P.; PEREIRA, F.T.F.; HERNANI, L.C. **Pragas** In: *Cultivo do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 2012. Acesso em 08/set/2016. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_8_ed/pragas.htm.

CZEPAK, C.; VIVAN, L.M.; ALBERNAZ, K.C. Praga da vez. **Revista Cultivar**, Pelotas, ano XV, n. 167, p. 20-27, 2013.

Dow Agrosiences Industrial Ltda, 2008. Commercial Release of Genetically Modified Corn, Herculex Corn (TC1507). Technical Opinion No. 1679/2008. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Disponível em: < <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12818.html> > acesso 20.08.14.

DUARTE, J. O.; CRUZ, J. C.; GARCIA, J. C.; MATTOSO, M. J. Economia da Produção. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho**. 6a ed. 2010. Disponível em: < http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/autores.htm >. Acesso em: 24 dez. 2014.

DUARTE, J.M.; GOMES, M.S.; SALDANHA, L.A.; ARGENTA, G.; RAMBO, L. **Eficácia de híbridos de milho Bt11 no controle de lepidópteros-praga em condições de campo sob infestação natural.** 2007. Disponível em:

<<http://www.syngenta.com.br/cs/Resumo%20expandido%20milho%20Bt11.pdf>>. Acesso em: 10/02/2009.

EMBRAPA; Cultivo do milho EMBRAPA-CNPMS, 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/index.htm>. Acesso em: 11/01/2013.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2ª ed. Guaíba: Agropecuária, 2004. 360 p.

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Preliminary 2011 data now available**. 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 21 dez. 2014.

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

FIGUEIREDO, M. L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1693-1698, 2006.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.34, n.1, p. 17-52, 1989.

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

GASSEN, D.N. **Manejo de pragas associadas a cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996, 134p.

GILL, S. S.; COWLES, E. A.; PIETRANTONIO, P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 615-636, 1992.

GUIMARÃES, P. S. **Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais**. 111f. Dissertação (mestrado) – Instituto Agrônomo. Campinas, 2007.

HEAD, G.P.; GREENPLATE, J. The design and implementation of insect resistance management programs for *Bt* Crops. **GM Crops and Food: Biotechnology in Agriculture and the Food Chain**, v.3, p.144-153, 2012.

HUANG, R.; BIRCH, C. J.; GEORGE, D. L. Water use efficiency in maize production – the challenge and improvement strategies. *Water to gold: Maize Association of*

Australia 6th Triennial Conference: proceedings. **Annals....** Darlington Point, 2006. 7 p.

HUANG, J. ROZELLE, S.; PRAY, C.; WANG, Q. Plant biotechnology in China. **Science**, New York, v. 295, p. 674-677, 2002.

LEITE, N.A.; MENDES, S.M.; WAQUIL, J.M.; PEREIRA, E.J.G. **O milho Bt no Brasil: a situação e a evolução da resistência de insetos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 46p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 133).

LOURENÇÃO, A.L.F.; FERNANDES, M.G. Avaliação do milho *Bt* Cry1A(b) e Cry1F no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de campo. **Científica**, Jaboticabal, v.41, p.164-188, 2013

LYNCH, R.E.; WISEMAN, B.R.; SUMNER, H.R. et al. Management of corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) injury on a sweet corn hybrid expressing a cry1A(b) gene. **Journal of Economic Entomology**, Lanham. v.92, n.5, p.1217-1222, 1999.

MACHADO, J. L. A. **Milho: cidadão americano, cidadão do mundo**. 2011. Disponível em: <www.planetaeducacao.com.br>. Acesso em 10 de janeiro de 2013.

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>. Acesso em: 26 de agosto de 2016.

MANYANGARIRWA, W.; TURNBULL, M.; MCCUTCHEON, G.S.; SMITH, J.P. Gene pyramiding as a *Bt* resistance management strategy: how sustainable is this strategy? **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v.5, p.781-785, 2006.

MCGAUGHEY, W.H., WHALON, M.E., 1992. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Science**, New York, v. 258, p.1451-1555.

MENDES, S. M.; MARUCCI, R. C.; MOREIRA, S. G.; WAQUIL, J. M. **Milho Bt: avaliação preliminar da resistência de híbridos comerciais à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 157).

MEYERS, H. B., JOHNSON, D. R.; SINGER, T. L.; PAGE, L. M. Survival of *Helicoverpa zea* Boddie on Bollgard® cotton. In: BELTWISE COTTON CONFERENCE, 1997, New Orleans. **Proceedings...** Memphis: National Cotton Council, 1997. v.2, p.1269-1271.

MICHELOTTO, M.D.; CROSARIOL NETTO, J.; FREITAS, R.S.; DUARTE, A.P.; BUSOLI, A. C. Milho transgênico (*Bt*): efeito sobre pragas-alvo e não-alvo. **Nucleus**, Itúverava, Edição Especial, p. 67-82, 2013.

MICHELOTTO, M.D.; FINOTO, E.L.; MARTINS, A.L.M.; CARREGA, W.C.; CROSARIOL NETTO, J.; DONÁ, C.A. Avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* em híbridos comerciais de milho convencionais e transgênicos submetidos ou não à inseticidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22. 2008, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: SEB, 2008. [CD-ROM].

MOAR, W.J.; ANILKUMAR, K.J. The power of pyramid. **Science**, New York, v.318, p.1561-1562, 2007.

MORAES, A.R.A.; LOURENÇÃO, A.L.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, Campinas, v.74, n.1, p.50-57, 2015.

NAGOSHI, R.N.; MEAGHER, R.L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.91, 546-554. 2008.

PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. (Eds.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. cap. 2, 2008. p. 48-61.

PATERNIANI, E.; CAMPOS, M.S. Melhoramento do milho. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Editora UFV, 1999. p. 429-485.

PEREZ, C.; FERNANDEZ, L. E. SUN, J.; FOLCH, J.L.; GILL, S. S.; SOBERON, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis* Cyt1Aa synergizes Cry11Aa toxin by functioning as a membrane bound receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 18303–18308, 2005.

PONS, A.; BRESOLIN, M. A cultura do milho. **Trigo e Soja**, Porto Alegre, n. 57, p. 6-31, 1981.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FLACÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 1, p.11-16, 2004.

SELVAPANDIYAN, A.; ARORA, N.; RAJAGOPAL, R.; JALALI, S. K.; VENKATESAN, T.; SINGH, S. P.; BHATNAGAR, R. K. Toxicity analysis of N- and C-terminus deleted vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, p. 5855–5858, 2001.

SILVA, A.G.A.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, M.N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo de insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitoides e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v.1, part, 2, 1968.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R. Principais pragas do tomate para mesa: bioecologia, dano e controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.24, p. 79-92, 2003.

SPARKS, A.N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.62, p. 82-87. 1979.

SPECHT, A.; SILVA, E.J.E.; LINK, D. Noctuídeos (Lepidoptera, Noctuidae) do Museu Entomológico Ceslau Biezanko, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas RS. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 389-409, 2004.

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**, San Diego, v.110, p. 294-300, 2012.

WAQUIL, J.M. **Manejo fitossanitário e ambiental: milho transgênico Bt e resistência das plantas ao ataque da lagarta-do-cartucho**. VIII Seminário Nacional de Milho Safrinha, Sete Lagoas, 2007.

WAQUIL, J. M.; BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M. **Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-docartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho-Bt**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 10 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 160).

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

WAQUIL, J.M.; VILLELA, F.M.F.; FOSTER, J.E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (LEPIDÓPTERA: NOCTUIDAE). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 3, p. 2-11. 2002.

WILLIAMS, W. P.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J. A.; DAVIS, F. M.; BUCKLEY, P. M. Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 957-962, 1997.

WISEMAN, B. R.; PAINTER, R. H.; WASSOM, C. E. Detecting corn seedling differences in the greenhouse by visual classification of damage by the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 59, p.1211-1214. 1996.

ZALUCKI, M.P.; MURRAY, D.A.H.; GREGG, P.C.; FITT, G.P.; TWINE, P.H.; JONES, C. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hubner) and *H. punctigera* (Wallengreen) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. **Australian Journal Zoology**, Victoria, v.42, p. 329-346, 1994.

CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE CULTIVARES DE MILHO BT EM RELAÇÃO AO ATAQUE DE *Spodoptera frugiperda* E *Helicoverpa zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO ESTADO DE SÃO PAULO.

RESUMO – Um dos principais fatores que comprometem o rendimento e a qualidade da produção da cultura do milho é a incidência de pragas. Dentre estas, destacam-se os lepidópteros como a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* e a lagarta-da-espiga, *Helicoverpa zea*. A cada ano, novas tecnologias Bt são disponibilizadas aos produtores no intuito de diminuir os prejuízos ocasionados por estas pragas. No entanto, durante dois ou três anos de uso, estas tecnologias reduzem o grau de supressão às lagartas, principalmente pela pressão de seleção contínua, além do uso inadequado da tecnologia, como a baixa adoção do refúgio. O objetivo do presente trabalho foi verificar o desempenho de diferentes biotecnologias Bt em lagartas de *S. frugiperda* e *H. zea* em quatro regiões produtoras de milho no estado de São Paulo. Os resultados demonstram que os cultivares avaliados possuem comportamentos naturalmente diferentes em relação ao ataque de lagartas nas plantas e nas espigas, sendo que os cultivares que expressam a proteína inseticida Cry1F apresentaram-se como mais suscetíveis ao ataque de *S. frugiperda* em plantas, e elevado porcentual de espigas atacadas por *H. zea* nas quatro regiões onde foram conduzidos os experimentos, indicando uma possível resistência de *S. frugiperda* a essa proteína, enquanto que a proteína VIP3aA20 conferiu às plantas, maior resistência ao ataque de *S. frugiperda*, e o menor porcentual de espigas atacadas por lagartas nas quatro regiões onde foram conduzidos os experimentos.

Palavras-chave: *Zea mays*, lagarta-do-cartucho, lagarta-da-espiga, *Bacillus thuringiensis*

CHAPTER 2 – BEHAVIOR OF BT CORN CULTIVARS IN RELATION TO ATTACK OF *Spodoptera frugiperda* AND *Helicoverpa zea* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN SÃO PAULO STATE

ABSTRACT – One of the major factors that compromise yield and quality of corn crop production is the incidence of pests. Among them highlights lepidopterans as fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and corn earworm *Helicoverpa zea*. Each year new Bt technologies are available to producers in order to remedy the damage caused by these pests. However, after two or three years of use, these technologies reduce the degree of suppression of larvae, mainly due to the pressure of continuous selection, as well as the inadequate use of technology, such as the low adoption of the refuge. The objective of this work was to verify the performance of different Bt biotechnologies in *S. frugiperda* and *H. zea* larvae in four corn producing regions in the São Paulo State. The results show that the evaluated cultivars have different behavior in relation to the attack of larvae in plants and ears. The cultivars that express the insecticidal protein Cry1F presented as more susceptible the attack of *S. frugiperda* in plants, and a high percentage of attacked ears for *H. zea* per plant in the four regions where the experiments were conducted, indicating a possible resistance of *S. frugiperda* to this protein. The VIP3aA20 protein conferred to the plants greater resistance of *S. frugiperda* attack and the lowest percentage of attacked ears by larvae in the four regions where the experiments were conducted.

Keywords: *Zea mays*, fall armyworm, corn earworm *Bacillus thuringiensis*

1. Introdução

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), destaca-se como a principal espécie-praga do milho (*Zea mays* L.) nas regiões subtropicais e tropicais do continente americano (JUÁREZ et al., 2012). No Brasil, além da lagarta-do-cartucho, outros insetos-praga também atacam a cultura do milho, como por exemplo, a lagarta-da-espiga do milho, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) (FARIAS et al., 2013).

Visando melhorar o manejo destes insetos nas plantas de milho, foram desenvolvidas as plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Através de apuradas técnicas de laboratório, genes de *Bacillus thuringiensis* Berliner 1715 (*Bt*) foram introduzidos em plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo alto padrão de resistência das plantas à algumas espécies alvos de lepidópteros-pragas (ARMSTRONG et al., 1995).

No Brasil, na segunda safra de 2011, a adoção de milho geneticamente modificado já havia atingido 80% da área cultivada com esse cereal (OMOTO et al., 2012). Na safra 2015/2016, a adoção de milho geneticamente modificado no Brasil, com algum evento *Bt* para controle de insetos, chegou a atingir aproximadamente 85% das áreas de cultivo (CÉLERES, 2016).

Atualmente, no Brasil existem liberados comercialmente 33 eventos de milho geneticamente modificado, dos quais 26 apresentam na sua composição proteínas para o controle de insetos-praga (CTNBio 2016). Entretanto, nas últimas safras, híbridos e tecnologias Bt estão apresentando sérios problemas com relação à resistência de populações de lepidópteros-alvo em campo, principalmente na Bahia e no Centro Oeste do País em estados como Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso. As primeiras tecnologias liberadas comercialmente estão com uma baixa porcentagem de supressão da lagarta *S. frugiperda* (CZEPAK et al., 2013).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar em condições de campo, o comportamento de cultivares de milho Bt de diferentes tecnologias, em relação ao ataque de *S. frugiperda* no cartucho das plantas e *H. zea* nas espigas, em quatro regiões produtoras de milho no estado de São Paulo.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados sob infestação natural de *S. frugiperda* e *H. zea*, no período de segunda safra, no ano de 2014, em quatro regiões produtoras de milho no estado de São Paulo.

Os experimentos foram instalados em áreas agrícolas de cultivos de milho localizada nas seguintes regiões: Médio Paranapanema, no município de Maracaí (22°36'39"S, 50°40'1"O); região Norte, no município de Guaíra (20°19'16"S, 48°18'23"O) ambas as regiões caracterizadas pelo cultivo de milho de forma sucessiva durante todo ano. Na região Centro Norte no município de Pindorama (21°11'9"S, 48°54'25"O) e na região Noroeste no município de Votuporanga (20°25'22"S, 49°58'22"O), sendo estas regiões caracterizados pela presença de áreas com uma diversidade de cultivos de espécies de plantas, maior em relação às outras duas regiões.

A semeadura foi realizada na primeira quinzena de março, de forma mecanizada com auxílio de uma semeadora de parcelas, no sistema de arrasto, com densidade de semeadura de 8 sementes por metro de linha. A adubação de base e de cobertura, bem como os demais tratamentos culturais foram realizados conforme as recomendações das boas práticas agrícolas para a cultura do milho em cada região de condução dos experimentos, segundo Cruz; Pereira Filho (2009).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com 25 tratamentos (cultivares) e quatro repetições. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de 10 metros de comprimento, espaçadas a 0,90 m entre si. Considerou-se como área útil das parcelas para as avaliações as duas linhas centrais de cada parcela, descartando-se 1,5 metros iniciais e finais de cada linha.

Os tratamentos foram compostos por 25 cultivares, sendo oito contendo a tecnologia VTPro[®] (PRO), cinco Powercore[®] (PW), quatro Herculex[®] (HX ou H), dois VTPro[®] 2 (PRO2), um Optimum Intrasecta[®] (YH), um Total Liberty[®] (TL), um Viptera3[®] (VIP3) e três cultivares convencionais (controle), sendo dois pulverizados com inseticidas químicos e uma cultivar sem aplicação (Testemunha) (Tabela 1). Ao entorno dos experimentos, foi realizada a semeadura de milho convencional, com o

intuíto destas áreas servirem como áreas de refúgio, como é recomendado pelas boas práticas de manejo com plantas Bt, em torno de 20% da área dos ensaios.

No cultivar convencional AL Piratininga não foi realizada aplicações de inseticidas, sendo esse cultivar utilizado como testemunha nos experimentos. Já os cultivares convencionais DKB177 e IAC 8390 foram pulverizados uma vez com inseticida clorantraniliprole + lambda-cialotrina (Ampligo®), na dose de 150 mLp.c. ha⁻¹ para o controle da lagarta-do-cartucho, no intuito de conservar plantas para se obter produtividade final ao ataque da lagarta-do-cartucho (testemunha controle). Nas quatro localidades, essa única aplicação de inseticida foi realizada ao redor de 35 dias após a emergência das plantas (DAE), quando a infestação da praga já atingia altas notas visuais de injúrias nas folhas.

Aos 45 dias após a semeadura, para verificar a intensidade do ataque de *S. frugiperda* em todas as localidades, atribuiu-se notas de sintomas visuais em 20 plantas selecionadas nas linhas centrais de cada parcela. Como referência, utilizou-se escala visual de sintomas de ataque que varia de zero a nove (DAVIS et al., 1992), sendo Nota 0: Planta atribuída a plantas sem injúria; Nota 1: Planta com pequenas injúrias; Nota 2: Plantas com pequenas injúrias com 1 a 3 lesões circulares pequenas até 1,5 cm; Nota 3: Plantas com 1 a 5 lesões circulares pequenas de até 1,5cm, mais 1 a 3 lesões alongadas de até 1,5 cm; Nota 4: Plantas com presença de 1 a 5 lesões circulares pequenas de até 1,5 cm, mais presença de 1 a 3 lesões alongadas entre 1,5 e 3,0 cm, mais pequenos furos circulares de até 0,5 cm; Nota 5: plantas com presença de 1 a 3 lesões alongadas maiores que 3,0 cm em 1 ou 2 folhas, mais 1 a 5 furos ou lesões alongadas de até 1,5cm; Nota 6: plantas com presença de 1 a 3 lesões alongadas grandes maiores que 3,0 cm em duas ou mais folhas, mais 1 a 3 furos grandes de 1,5 cm em 2 ou mais folhas. Nota 7 plantas com 3 a 5 lesões alongadas grandes maiores que 3,5 cm ou duas folhas, mais a presença de 3 a 5 furos grandes maiores que 1,5 cm em 2 ou mais folhas. Nota 8 plantas com a presença de muitos furos superiores a 5,0 cm; Nota 9: planta com o cartucho totalmente destruído.

Para avaliar as injúrias e os danos decorrentes de lagartas nas espigas (*H. zea*), no período que antecedeu a colheita (pré-colheita) foram amostradas 10 espigas por parcela em sequência, de plantas localizadas na primeira linha útil da parcela. Foi

avaliado o número de espigas com danos de lagartas e calculou-se a porcentagem de espigas atacadas.

Além disso, para verificar a intensidade dos danos provocados pelas lagartas nas espigas, foi contabilizado e medida as lesões presentes nas mesmas, de forma que a área da lesão foi estimada pela multiplicação do comprimento e pela largura da galeria na superfície da espiga com grãos, desconsiderando-se a ponta da espiga sem grãos (FARIAS et al., 2013). Essa variável indica as perdas diretas de grãos e não inclui os danos na ponta do sabugo.

Para a avaliação de produtividade, aproximadamente aos 150 DAE (dias após a emergência) das plantas, foi realizada a colheita da segunda linha útil de cada parcela. Posteriormente avaliou-se a produtividade de grãos de cada genótipo, estimando-se a massa em Kg ha^{-1} dos grãos resultantes da debulha do total de espigas colhidas, sendo os valores obtidos posteriormente corrigidos a 13% de umidade.

Para atender as necessidades de normalidade e homocedasticidade, antes de proceder as análises estatísticas, os dados referentes às notas de sintomas visuais de ataque de *S. frugiperda* assim como os dados de área consumida da espiga por lagartas, foram submetidos à transformação de $(\sqrt{x + 0,5})$, enquanto os dados de porcentagem de espigas atacadas por lagartas, foram submetidos à transformação arco seno $\sqrt{x/100}$. Para todos os parâmetros avaliados quando foi realizada a comparação entre os cultivares, os dados foram submetidos a análise de Variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Posteriormente todos os resultados obtidos para os cultivares de mesma tecnologia foram agrupados e analisados para verificar a diferença entre as tecnologias. Para isso realizou-se a análise de Variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1. Cultivar, tecnologia, eventos e toxinas expressas pelas plantas dos cultivares de milho utilizados nos experimentos realizados em quatro regiões do estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Cultivar / híbridos	Tecnologia (Sigla)	Evento (CTNBio)	Toxina
AL Piratininga*	Convencional	-	-
IAC 8390	Convencional	-	-
DKB177	Convencional	-	-
Celeron TL	Total Liberty® (TL)	SYN-BT011-1	Cry1Ab
BG7061 H	Herculex® (H ou HX)	TC1 507	Cry1F
BG7037 H	Herculex® (H ou HX)	TC1 507	Cry1F
20A78 HX	Herculex® (H ou HX)	TC1 507	Cry1F
P6461 H	Herculex® (H ou HX)	TC1 507	Cry1F
P4385 YH	Optimun Intrasecta® (YH)	MON810 + TC1 507	Cry1Ab + Cry1F
30A37 PW	PowerCore® (PW)	MON 810 + MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F
2B512 PW	PowerCore® (PW)	MON 810 + MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F
2B210 PW	PowerCore® (PW)	MON 810 + MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F
2B433 PW	PowerCore® (PW)	MON 810 + MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F
MG300 PW	PowerCore® (PW)	MON 810 + MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F
GNZ9505 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
DKB340 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
DKB285 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
AG8500 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
RB9006 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
DKB350 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
BM915 PRO	VTpro® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
AS1665 PRO	VTpro2® (Pro)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
AG9030 PRO2	VTpro2® (Pro2)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
AG9080 PRO2	VTpro2® (Pro2)	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
Impacto VIP3	Viptera3® (VIP)	BT11 + MIR 162	Cry1Ab + VIP3Aa20

*cultivar ou variedade, demais híbridos

3. Resultados e Discussão

Nas quatro regiões em que foram realizados os experimentos foram verificadas injúrias intensas de ataque de *S. frugiperda*, inclusive com diferenças significativas entre os cultivares utilizados para as notas atribuídas as injúrias de ataque de *S. frugiperda*. No experimento realizado na Região Norte do Estado, verificou-se que as maiores notas visuais de injúrias foram atribuídas para os cultivares AL Piratininga (convencional não pulverizado), P6461 H, Celeron TL, BG 7061 H, P4285 YH, BG7037 H e 20A78 HX. Estes cultivares apresentaram médias de notas que variaram entre 6,85 a 8,40, apresentando desde plantas com o cartucho parcialmente destruído a plantas com o cartucho totalmente destruído, portanto se comportaram como bastante suscetíveis à praga, nas condições do presente trabalho (Tabela 2).

Na Região do Médio Paranapanema, os cultivares que apresentaram os maiores sintomas de ataque de *S. frugiperda* foram P6461 H, P4285 YH, 20A78 Hx, AL Piratininga (convencional não pulverizado) e BG7037 H, com média de notas que variaram de 6,33 a 7,41, portanto também bastante suscetíveis à praga. Já na Região Centro Norte do estado, os cultivares que apresentaram os maiores sintomas de ataque de *S. frugiperda* foram os cultivares convencionais, AL Piratininga (convencional não pulverizado), IAC 8390 e DKB177 (pulverizados), com médias de notas, 7,68; 7,58 e 6,90 respectivamente, ou seja plantas com presença de várias lesões alongadas maiores que 3,5 cm em duas ou mais folhas do cartucho (Tabela 2).

No experimento conduzido na região Noroeste do estado, dentre os genótipos avaliados, os que apresentaram maiores notas de sintomas de ataque de *S. frugiperda* foram 20A78 Hx, BG7061 H, BG7037 H, Celeron TL, P4285 YH e AL Piratininga (convencional não pulverizado), com médias de notas que variaram de 4,95 a 5,96 ou seja, plantas com poucas lesões de 1,5 a 3,0 cm nas folhas do cartucho (Tabela 2).

De modo geral, observou-se nas quatro regiões em que foram conduzidos os experimentos, que a cultivar AL Piratininga apresentou grande índice de desfolha, resultado este já esperado, pois além desse cultivar não expressar proteína com efeito inseticida sobre lepidópteros, não foram realizadas pulverizações foliares adicionais para o controle da praga. Os cultivares BG7037 H, 20A78 Hx com a tecnologia Herculex[®] (Cry1F), e o cultivar P4285 YH com a tecnologia Intrasect[®] (Cry1Ab +

Cry1F), mesmo expressando proteínas com efeito inseticida, apresentaram notas de sintomas de ataque acima de 5,0 ou seja, plantas com uma a três lesões alongadas grandes em duas ou mais folhas, em pelo menos três regiões onde foram conduzidos os experimentos, portanto, comportando-se como suscetíveis à praga (Tabela 2).

Tabela 2. Notas atribuídas aos sintomas ou injúrias de ataque de *Spodoptera frugiperda* em cultivares convencionais e transgênicos em quatro Regiões do Estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Cultivar / Híbridos	Regiões do Estado de São Paulo			
	Norte	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste
AL Piratininga²	8,40 a	6,34 a	7,68 a	4,95 a
IAC8390	4,42 b	4,62 b	7,58 a	4,05 b
DKB177	4,65 b	3,33 c	6,90 a	3,53 b
Celeron TL	7,40 a	2,81 c	5,74 b	5,06 a
BG7061 H	7,04 a	3,36 c	5,98 b	5,65 a
BG7037 H	6,91 a	6,33 a	4,93 b	5,23 a
20A78 HX	6,85 a	6,45 a	5,46 b	5,96 a
P6461 H	7,51 a	7,41 a	5,48 b	4,03 b
P4285 YH	6,95 a	6,61 a	4,60 b	5,04 a
30A37 PW	4,44 b	5,08 b	1,89 c	2,88 c
2B512 PW	3,78 b	4,39 b	2,00 c	2,50 c
2B210 PW	3,40 b	3,06 c	1,98 c	2,84 c
2B433 PW	3,30 b	4,85 b	1,46 d	2,81 c
MG300 PW	2,68 c	4,39 b	1,19 d	2,79 c
GNZ9505 PRO	3,93 b	4,78 b	1,30 d	2,81 c
DKB340 PRO	3,70 b	3,69 c	2,14 c	2,53 c
DKB285 PRO	3,56 b	3,98 b	2,15 c	3,31 c
AG8500 PRO	3,15 c	3,61 c	1,28 d	1,70 d
RB9006 PRO	3,01 c	2,74 c	1,10 d	1,38 d
DKB350 PRO	2,92 c	2,76 c	1,34 d	2,13 d
BM915 PRO	2,53 c	4,14 b	1,93 c	2,59 c
AS1665 PRO	2,28 c	1,90 c	1,34 d	1,91 d
AG9030 PRO2	2,58 c	3,44 c	0,94 d	2,03 d
AG9080 PRO2	2,45 c	3,21 c	1,43 d	2,31 c
Impacto VIP3	0,36 d	0,13 d	0,20 e	0,14 e
Média Geral	4,33	4,14	3,11	3,2
Teste F	28,52**	6,01**	32,39**	33,92**
CV (%)	8,58	16,69	11,87	7,31

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. **= significativo a 1% de probabilidade.

²Cultivar, demais híbridos

Nas quatro Regiões em que foram conduzidos os experimentos observou-se que o cultivar transgênico Impacto Vip3, foi o que apresentou as menores médias de notas atribuídas aos sintomas de ataque de *S. frugiperda*, abaixo de 1,0, ou seja folhas levemente raspadas, em todos os locais avaliados, portanto esse cultivar suprimiu as lagartas da praga, logo no primeiro ou segundo instar larval, e com isso, as plantas apresentaram poucas desfolha, comportando-se como resistente às lagartas (Tabela 2).

Pertelini et al. (2014) realizaram estudos com o intuito de verificar o consumo foliar de *S. frugiperda* utilizando híbridos de milho Bt de diferentes tecnologias, eles constataram que lagartas alimentadas com folhas de híbridos que expressam a proteína VIP3Aa20 apresentaram 100% de mortalidade nas primeiras 48 horas, resultados semelhantes ao observado nos experimentos.

Ao verificar as biotecnologias, independente dos cultivares, através das notas atribuídas aos sintomas de ataque de *S. frugiperda*, observou-se que as tecnologias se comportaram de maneira diferente frente ao ataque de *S. frugiperda* nas diferentes regiões de condução dos experimentos (Tabela 3). De acordo com Mendes e Waquil (2009), é possível que o produtor encontre em condições de campo respostas diferenciadas em relação ao controle de *S. frugiperda* com a utilização de biotecnologias diferentes. Assim, em termos de manejo de praga, é fundamental o monitoramento das áreas, para reduzir o risco de eventuais escapes de lagartas, mesmo em cultivares com tecnologias que apresentam alta eficiência de controle.

Na Região Norte do Estado, as maiores notas visuais de danos foram atribuídas para as cultivares convencional (8,40) e tecnologias Total Liberty® (7,40), Herculex® (7,08) e Intrasect® (6,95). Na região do Médio Paranapanema, as maiores notas visuais de injúrias foram atribuídas para a tecnologia Intrasect® (6,61), Convencional (6,34), Herculex® (5,89) enquanto que na região Centro Norte, as maiores notas foram atribuídas para as cultivares: convencional (7,68), convencional pulverizado (7,23) e Total Liberty® (5,74) e na Região Noroeste as maiores notas foram atribuídas para a tecnologia Herculex® (5,22), Total Liberty® (5,06), Intrasect® (5,04) e Convencional (4,95) (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação entre as tecnologias disponíveis em relação às notas visuais de injúria de ataque de *Spodoptera frugiperda* em quatro regiões do estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Tecnologias	Regiões do estado de São Paulo			
	Norte	M. Paranaíba	Centro Norte	Noroeste
Convencional	8,40 a	6,34 ab	7,68 a	4,95 ab
Conv. Pulv.	4,53 b	3,98 abcd	7,23 a	3,79 b
Total Liberty®	7,40 a	2,81 d	5,74 ab	5,06 ab
Herculex®	7,08 a	5,89 abc	5,46 b	5,22 a
Intrasect®	6,95 a	6,61 a	4,60 b	5,04 ab
PowerCORE®	3,51 bc	4,35 abcd	1,70 c	2,76 c
VT Pro®	3,13 cd	3,44 cd	1,57 c	2,30 c
VT Pro 2®	2,51 d	3,33 cd	1,18 cd	2,17 c
Viptera 3®	0,36 e	0,13 e	0,20 d	0,14 d
Teste F	68,61**	11,30**	78,80**	54,47**
CV (%)	9,32	18,24	12,99	9,49
Média Geral	4,33	4,14	3,11	3,20

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. **= significativo a 1% de probabilidade.

Nas diferentes regiões produtoras, pôde-se observar que os cultivares com as tecnologias Herculex® (Cry1F), Total Liberty® (Cry1Ab), Intrasect® (Cry1Ab + Cry1F) e convencionais não se diferenciaram em termos de ocorrência de dano, estes dados diferem daqueles obtidos por Michelotto et al. (2011b), Michelotto et al. (2013) e Nais et al. (2013) em experimentos realizados em diferentes regiões do estado de São Paulo já há alguns anos, estes estudos demonstraram que os híbridos de milho Herculex® foram mais efetivos da redução da infestação e na redução dos danos ocasionados por *S. frugiperda* em plantas de milho, em até 2 ou 3 anos de uso destes híbridos.

Em todas as Regiões estudadas, as menores notas foram atribuídas para a tecnologia Viptera3® (Tabela 3), resultados estes semelhantes aos encontrados por Moraes et al (2015) em experimentos realizados durante a safra 2010/2011 e 2011/2012 em duas regiões do estado de São Paulo. No entanto, naquela ocasião além da tecnologia Viptera Moraes et al. (2015) constataram que a tecnologia

Herculex[®] (em Campinas) e Yieldgard[®] (em Mococa) ainda apresentaram alta eficiência de controle sobre *S. frugiperda*.

No presente trabalho, foi observado que as tecnologias lançadas mais recentemente como VTPro[®], Powercore[®] e Viptera3[®], apresentam menores danos do que aos ocasionados nos cultivares TotalLiberty[®] (Cry1Ab) e Herculex[®] (Cry1F), estes resultados corroboram os constatados por Waquil et al. (2013), que observaram alta eficiência de controle de híbridos de milho com expressão da proteína inseticida Cry1A.105 + Cry2Ab2 (VTPro[®]) sobre *S. frugiperda*, enquanto que para híbridos de milho que expressam a proteína inseticida Cry1Ab (Yieldgard[®] e Total Liberty[®]), os autores recomendaram monitoramento constante, pois, essa tecnologia não apresenta mais alta eficiência de controle sobre essa praga.

Estes resultados demonstram que a cada ano vêm crescendo a importância do monitoramento de *S. frugiperda* em milho Bt, principalmente sobre milho semeado na segunda safra pois, verifica-se que com o decorrer dos anos, as tecnologias vêm perdendo eficiência de controle em relação a esta praga, demonstrando que a tecnologia de milho Bt, à medida que é utilizada, vai pressionando a evolução de populações cada vez mais resistentes às proteínas presentes nas plantas de eventos específicos. Além disso, a evolução da resistência pode ser mais rápida à medida que a área cultivada com determinada biotecnologia aumenta.

De modo geral, observou-se que os cultivares com as tecnologias Herculex[®], Total Liberty[®] e Optimum Intrasect[®] que expressam as proteínas inseticidas Cry1F, Cry1Ab e Cry1Ab + Cry1F respectivamente, apresentaram notas de sintomas de ataque acima de 4,0, ou seja plantas com a presença de 1 a 5 lesões circulares pequenas (< 1,5cm) mais a presença de 1 a 3 lesões alongadas (entre 1,5 e 3,0cm) em todas as localidades, evidenciando que ambas as tecnologias já necessitam de realização de pulverizações adicionais para o controle de *S. frugiperda*.

Ambas as tecnologias foram liberadas comercialmente no Brasil a partir do ano de 2008 e 2009, desde então estão sendo amplamente utilizadas, pois apresentavam controle satisfatório sobre *S. frugiperda* nos anos posteriores ao seu lançamento comercial. Com os resultados observados no presente experimento é possível observar que as populações de *S. frugiperda* presentes no estado de São Paulo, não

são mais controladas por estas tecnologias, evidenciando uma possível seleção de insetos resistentes principalmente ao Cry1F.

Estes resultados demonstram que devido a utilização incorreta das novas tecnologias ou eventos novos de milho Bt, a manifestação de resistência de da em três ou quatro safras, e a partir daí, novas populações resistentes evoluem nos híbridos, aumentando a necessidade da realização de pulverizações auxiliares de inseticidas para controlar a praga a níveis econômicos satisfatórios.

Resultados semelhantes foram constatados por Farias et al. (2014), que detectaram populações de *S. frugiperda* resistentes a Cry1F em áreas de cultivo de milho presentes em Barreiras, BA. Estes autores destacam que a evolução da resistência se deu no período de três safras após a introdução do milho que expressa a proteína inseticida Cry1F naquela região, e fatores como o clima tropical e a utilização de irrigação durante o período de entressafra permitiu o cultivo de milho continuamente durante o ano inteiro, aumentando assim a pressão de seleção sobre as populações de *S. frugiperda* presentes nos cultivos dessa cultura.

Muito do que é verificado no Brasil sobre esta alta pressão seletiva, se deve a diversos fatores, principalmente a falta de áreas de refúgios, plantio direto e sucessivo de milho o ano todo com híbridos da mesma tecnologia, e pelas tigueras ou plantas de milho espontâneos tolerantes a herbicidas, simultaneamente à tecnologia Bt. Gould (1998) e Tabashnik et al. (2013) evidenciam a importância da utilização de táticas que auxiliem os programas de manejo de resistência em insetos às tecnologias Bt, ressaltando que estes programas são cruciais para garantir a durabilidade a longo prazo de culturas Bt.

Em relação ao ataque de lagartas nas espigas, observaram-se diferenças significativas entre os cultivares avaliados nas quatro regiões do estado de São Paulo. Na Região Norte do Estado, o maior percentual de espigas com sintomas de ataque foi observado nos cultivares P6461H, BG7061H, BG7037H, 20A78 Hx, AL Piratininga, BM915 Pro, 2B210 PW, IAC8390, P4385 YH, GNZ9505 Pro, DKB177, Celeron TL, 2B433 PW e RB9006 Pro, sendo que o percentual de espigas atacadas para estes cultivos variou de 12,5 a 30,0% (Tabela 4).

Tabela 4. Espigas atacadas (EA) (%) e Área Consumida (AC) (cm²) por *H. zea* em diferentes cultivares em quatro regiões do estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Cultivar / Híbridos	Regiões do Estado de São Paulo							
	Norte		M. Paranap.		Centro Norte		Noroeste	
	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²
AL Piratininga ²	22,5 a	2,48 b	27,5 a	3,63 a	42,5 b	4,95 a	32,5 a	4,09 a
IAC 8390	17,5 a	1,81 b	5,0 b	2,00 b	60,0 a	4,10 a	22,5 b	5,28 a
DKB177	12,5 b	1,88 b	0,0 b	0,00 c	40,0 b	3,85 a	37,5 a	2,66 b
Celeron TL	12,5 b	2,58 b	15,0 a	2,00 b	55,0 a	2,87 a	25,0 b	4,35 a
BG7061 H	27,5 a	4,97 a	7,5 b	0,06 c	55,0 a	4,49 a	52,5 a	3,60 b
BG7037 H	25,0 a	2,25 b	27,5 a	3,83 a	57,5 a	5,42 a	42,5 a	5,00 a
20A78 HX	25,0 a	5,58 a	17,5 a	1,19 b	45,0 b	2,79 a	40,0 a	4,54 a
P6461 H	30,0 a	4,52 a	22,5 a	1,67 b	62,5 a	3,13 a	42,5 a	3,51 b
P4385 YH	15,0 a	0,79 c	2,5 b	0,00 c	52,5 a	3,85 a	22,5 b	4,15 a
30A37 PW	7,5 b	1,15 c	5,0 b	1,13 c	35,0 c	3,99 a	40,0 a	3,54 b
2B512 PW	7,5 b	1,28 c	20,0 a	3,00 a	32,5 c	3,65 a	42,5 a	3,99 a
2B210 PW	17,5 a	3,13 b	10,0 b	1,79 b	30,0 c	2,18 b	22,5 b	4,04 b
2B433 PW	12,5 b	2,03 b	22,5 a	2,68 a	42,5 b	3,93 a	27,5 b	2,88 b
MG300 PW	0,0 b	0,00 c	7,5 b	2,00 b	27,5 c	2,99 a	47,5 a	4,28 a
GNZ9505 PRO	15,0 b	2,56 b	12,5 b	1,38 b	47,5 b	3,57 a	35,0 a	3,96 a
DKB340 PRO	2,5 b	0,19 c	0,0 b	0,00 c	25,0 c	4,10 a	17,5 b	6,78 a
DKB285 PRO	7,5 b	1,56 c	15,0 a	1,09 c	10,0 d	1,69 b	35,0 a	2,28 b
AG8500 PRO	5,0 b	0,38 c	5,0 b	0,25 c	47,5 b	2,87 a	30,0 b	3,40 b
RB9006 PRO	12,5 b	1,69 c	0,0 b	0,00 c	45,0 b	3,53 a	35,0 a	5,38 a
DKB350 PRO	10,0 b	1,83 c	7,5 b	1,13 c	30,0 c	3,60 a	25,0 b	2,35 b
BM915 PRO	20,0 a	2,14 b	7,5 b	1,94 b	37,5 c	3,29 a	45,0 a	3,10 b
AS1665 PRO	10,0 b	1,26 c	27,5 a	1,90 b	52,5 a	3,28 a	27,5 b	2,26 b
AG9030 PRO2	10,0 b	3,31 b	7,5 b	0,38 c	32,5 c	4,12 a	20,0 b	0,84 c
AG9080 PRO2	7,5 b	0,71 c	17,5 a	3,05 a	47,5 b	4,38 a	35,0 a	3,44 b
Impacto VIP3	0,00 b	0,00 c	0,0 b	0,00 c	0,0 d	0,00 c	0,0 c	0,00 c
Media Geral	13,30	2,00	11,60	1,44	40,50	3,46	32,10	3,58
Teste F	3,57**	3,18**	5,13**	4,04**	8,84**	3,24**	5,49**	6,26**
CV (%)	65,64	35,90	69,48	34,23	24,97	19,31	30,45	16,48

Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott.

**= significativo a 1% de probabilidade

²Cultivar, demais híbridos.

Na região do Médio Paranapanema, dentre os cultivares, os que apresentaram o maior percentual de espigas atacadas por lagartas foram: AL Piratininga, BG7037 H, AS1665 Pro, P6461 H, 2B433 PW, 2B512 PW, 20A78 Hx, AG9080 Pro2, DKB285 Pro, Celeron TL e GNZ9505 Pro, com média de espigas atacadas que variaram de 12,5 a 27,5%. Dentre as regiões que foram conduzidos os experimentos, essa foi a que apresentou o menor percentual de ataque de lagartas nas espigas com percentual médio de 11,30% de espigas atacadas (Tabela 4).

Ao contrário do observado na região do Médio Paranapanema, a região Centro Norte foi onde observou-se o maior percentual de espigas atacadas por lagartas, com média geral de 40,50%. Nessa região, os cultivares que apresentaram os maiores percentuais de espigas atacadas por lagartas foram: P6461 H, IAC 8390, BG7037 H,

Celeron TL, BG7061 H, P4385 YH e AS1665 Pro, com percentual de espigas atacadas que variaram de 52,5 a 62,5%, considerando percentual elevado de ataque (Tabela 4).

Na Região Noroeste do Estado, os cultivares que apresentaram o maior percentual de espigas atacadas foram BG7061 H, MG300 PW, BM915 Pro, BG7037 H, P6461 H, 2B512 PW, 20A78 Hx, 30A37 PW, DKB 177, GNZ9505 Pro, DKB258 Pro RB9006 Pro, AG9080 Pro2 e AL Piratininga, com percentual de espigas atacadas que variaram de 32,5 a 52,5% (Tabela 4).

Ao verificar a intensidade do ataque das lagartas, através da área consumida nas espigas, constatou-se que na Região Norte do estado, os cultivares P6461 H, BG7061 Hx e 20A78 Hx, foram os que sofreram ataques de lagartas mais intensos nas espigas, com média de 4,52, 4,97 e 5,58 cm² de área consumida respectivamente (Tabela 4). Na região do Médio Parapanema foi observado que os cultivares 2B433 PW, 2B512 PW, AG9080 Pro2, AL Piratininga e BG7037 H foram os que tiveram maior área consumida da espiga por lagartas, com médias que variaram de 2,68 a 3,83 cm², níveis percentuais um pouco menores que na Região Norte do Estado (Tabela 4).

Na Região Centro Norte, com exceção dos cultivares 2B210 PW, DKB285 Pro e Impacto Vip3 que apresentaram médias de apenas 2,18, 1,69 e 0,00 cm² de área consumida, todos os demais cultivares apresentaram maior intensidade de ataque de lagartas nas espigas, com média de área consumida da espiga que variaram de 2,79 a 5,42 cm² (Tabela 4). Já na Região Noroeste do Estado, os cultivares DKB340 Pro, RB9006 Pro, IAC 8390, BG7037 H, 20A78 Hx, Celeron TL, MG300 PW, P4385 YH, AL Piratininga, 2B210 PW, 2B512 PW e GNZ9505 Pro, foram os que apresentaram maior intensidade de danos provocados por lagartas nas espigas, com médias de consumo que variaram de 3,96 cm² a 6,78 cm² (Tabela 4).

Nas quatro regiões em que foram conduzidos os experimentos, o cultivar transgênico Impacto Vip 3, foi o único que não apresentou espigas danificadas por lagartas de *H. zea* ou *S. frugiperda*, sendo assim, nas quatro regiões esse cultivar foi classificado como o mais resistente, demonstrando alta eficiência de controle de lagartas que atacam as espigas (Tabelas 4 e 5). Barbosa et al. (2012) avaliaram o efeito das proteínas Bt expressas em milho sobre lagartas de *H. zea*, e constataram menor sobrevivência de lagartas quando estas foram alimentadas com híbridos que

expressam a proteína inseticida VIP3aA20, demonstrando a alta eficiência dessa proteína sobre este lepidóptero.

Ao comparar as tecnologias através do percentual de espigas atacadas, independentemente dos cultivares nas diferentes regiões, observou-se que nas Regiões Centro Norte, Noroeste e Norte os cultivares da tecnologia Herculex[®], foram os que apresentaram o maior percentual de espigas atacadas com médias de 55,00%, 44,38% e 26,88% (Tabela 5). Estes resultados são divergentes em relação aos constatados por Santos et al. (2009) em experimentos realizados em Indianópolis, MG, em que os autores constataram que o híbrido 2B688 Hx, que expressa a proteína inseticida Cry1F, na época foi eficiente no controle de lagartas de *H. zea*, o que não aconteceu nos ensaios do presente trabalho. Na região do Médio Paranapanema, com exceção dos cultivares com a tecnologia Viptera 3, que não se observou o ataque de lagartas nas espigas, todos os demais cultivares apresentaram percentual de espigas atacadas semelhantes sendo que as médias variaram de 2,50% a 18,75% (Tabela 5).

Nas quatro Regiões em que foram conduzidos os experimentos observou-se que o cultivar com a tecnologia Viptera3[®] que expressa as proteínas Cry1Ab + VIP3Aa20 não apresentou sintomas de ataque de lagartas nas espigas (Tabela 5). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Pirotta et al. (2013) em experimentos conduzidos nas regiões Centro Norte e Noroeste do Estado e por Michelotto et al. (2013), em experimentos conduzidos na região Noroeste do Estado de São Paulo.

Ao comparar as diferentes tecnologias frente a intensidade dos danos provocados por lagartas nas espigas, nas quatro regiões estudadas, foram observadas diferenças significativas entre os dados avaliados. Na região Norte, os cultivares da tecnologia Herculex[®] foram os mais suscetíveis, isto é, os que apresentaram a maior área consumida por lagartas nas espigas com média de 4,33 cm² de área consumida por espiga, na Região Noroeste além da tecnologia Herculex[®] os cultivares da tecnologia Intrasect[®] foram os que apresentaram espigas com maior área consumida por lagartas, com médias de 4,35 e 4,15 cm² respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação entre as tecnologias disponíveis em relação ao percentual de espigas atacadas (EA) (%) e a área consumida da espiga (AC) (cm²) por *H. zea* em quatro regiões do estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Tecnologia	Regiões do estado de São Paulo							
	Norte		M. Paranap.		Centro Norte		Noroeste	
	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²	EA (%)	AC cm ²
Convencional	17,50 ab	2,06 ab	10,83 a	1,88 a	47,50 ab	4,30 a	30,83 ab	4,01 ab
Total Liberty[®]	12,50 abc	2,59 ab	15,00 a	2,00 a	55,00 ab	2,87 a	25,00 ab	4,35 a
Herculex[®]	26,88 a	4,33 a	18,75 a	1,68 a	55,00 a	3,96 a	44,38 a	4,17 ab
Intrasect[®]	15,00 ab	0,79 b	2,50 a	0,00 b	52,50 ab	3,85 a	22,50 b	4,15 a
PowerCore[®]	9,00 bc	1,52 b	13,00 a	2,11 a	33,50 b	3,35 a	36,00 ab	3,75 abc
VT Pro[®]	10,31 bc	1,45 b	10,00 a	0,96 a	36,88 b	3,24 a	31,25 ab	3,69 abc
VT Pro 2[®]	8,75 bc	2,01 b	12,50 a	1,71 a	40,00 ab	4,25 a	27,50 b	2,14 bc
Viptera 3[®]	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 d
Teste F	8,42**	5,93**	2,45*	2,58*	14,66**	7,44**	14,39**	9,88**
CV (%)	51,18	38,53	78,55	42,79	24,2	19,78	23,14	10,9
Média Geral	13,3	2,00	11,6	1,44	40,5	3,46	32,1	3,59

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. *, **= significativo a 5 e 1% de probabilidade.

Com relação aos resultados obtidos nas Regiões Centro Norte e do Médio Paranapanema, com exceção dos cultivares com a tecnologia Viptera 3[®], em ambas as regiões e dos cultivares com tecnologia Intrasect na região do Médio Paranapanema que não apresentaram danos ocasionados por lagartas, as demais tecnologias se comportaram de maneira semelhante, sendo que na região Centro Norte, as médias de danos nas espigas variaram de 2,87 a 4,30 cm² e na Região do Médio Paranapanema as médias de danos nas espigas variaram de 0,96 a 2,11 cm² (Tabela 5).

Ao observar o parâmetro estimativa de rendimento de grãos (Kg ha⁻¹), nota-se que ocorreu diferenças significativas entre os dados obtidos das cultivares nas diferentes regiões. Na Região Norte observou-se que os cultivares 2B512 PW, AG8500 Pro, DKB285 Pro, 30A37 PW, 2B210 PW, RB9006 Pro, BM915 Pro, GNZ9505 Pro, 20A78 Hx, 2B433 PW foram os mais produtivos, com médias de produtividade que variaram de 5.329,9 Kg ha⁻¹ a 6.016,2 Kg ha⁻¹. Já para o cultivar AL Piratininga e para o híbrido IAC 8390 verificou-se menor produtividade, com médias de 3.113,5 e 2.859,0 Kg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Estimativa de rendimento de grãos (Kg ha⁻¹) de diferentes cultivares de milho em quatro regiões do estado de São Paulo. Safrinha 2014.

Cultivar / Híbridos	Regiões do estado de São Paulo			
	Norte	M. paranap.	Noroeste	Centro Norte
AL Piratininga ²	3.113,5 d	4.548,1 c	2.588,5 b	3.427,7 b
IAC 8390	2.859,0 d	3.921,7 c	3.911,4 a	4.221,6 a
DKB177	5.170,5 b	6.277,1 a	4.013,9 a	2.380,4 b
Celeron TL	5.018,8 b	6.687,1 a	4.648,2 a	2.721,6 b
BG7061 H	4.306,9 c	6.294,1 a	3.993,7 a	2.706,6 b
BG7037 H	5.093,9 b	5.941,8 b	4.064,1 a	3.607,6 b
20A78 HX	5.329,2 a	6.996,9 a	4.109,9 a	4.970,5 a
P6461 H	4.222,3 c	5.281,9 b	3.084,3 b	3.973,0 a
P4385 YH	4.291,3 c	5.857,9 b	3.830,1 a	5.033,0 a
30A37 PW	5.670,0 a	7.408,8 a	4.846,9 a	5.026,7 a
2B512 PW	6.016,2 a	7.221,1 a	4.928,8 a	4.825,5 a
2B210 PW	5.579,9 a	7.128,7 a	4.617,9 a	3.738,0 b
2B433 PW	5.300,9 a	6.368,4 a	5.501,1 a	4.871,7 a
MG300 PW	5.134,3 b	5.875,9 b	4.471,8 a	3.383,5 b
GNZ9505 PRO	5.375,6 a	6.245,5 a	4.846,9 a	3.883,6 a
DKB340 PRO	4.800,8 b	8.469,6 a	3.895,6 a	4.324,1 a
DKB285 PRO	5.788,4 a	6.590,2 a	4.205,7 a	3.005,8 b
AG8500 PRO	5.933,3 a	7.245,7 a	2.612,9 b	4.658,0 a
RB9006 PRO	5.451,9 a	6.943,9 a	4.048,2 a	3.305,8 b
DKB350 PRO	4.920,0 b	7.192,6 a	4.370,2 a	3.045,2 b
BM915 PRO	5.380,4 a	6.285,9 a	4.991,1 a	3.937,9 a
AS1665 PRO	4.899,5 b	6.756,1 a	4.218,4 a	2.893,9 b
AG9030 PRO2	5.175,3 b	6.651,2 a	4.059,8 a	2.109,0 b
AG9080 PRO2	4.872,3 b	6.962,5 a	4.256,9 a	3.610,1 b
Impacto VIP3	4.626,1 b	7.374,6 a	3.278,4 b	3.165,9 b
Teste F	10,65**	6,59**	4,13**	4,19**
CV (%)	9,41	11,34	16,41	22,74
Média Geral	4.973,3	6.501,1	4.121,0	3.713,1

Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott.

**= significativo a 1% de probabilidade

²Cultivar, demais híbridos.

Na região do Médio Paranapanema, os cultivares mais produtivos foram DKB340 Pro, 30A37 PW, Impacto Vip3, AG8500 Pro, 2B512 PW, DKB350 Pro, 2B210

PW, 20A78 Hx, AG9080 Pro2, RB9006 Pro, AS1665 Pro, Celeron TL, AG9030 Pro2, DKB285 Pro, 2B433 PW, BG7061 H, BM915 Pro, DKB177 e GNZ9505 Pro, que apresentaram produtividades médias que variaram de 6.245,5 a 8.469,6 Kg ha⁻¹. No cultivar AL Piratininga e no híbrido IAC 8390 assim como constatado na Região Norte do Estado, foram os menos produtivos com média de 4.548,1 e 3.921,7 Kg ha⁻¹, respectivamente (Tabela 6).

Para o experimento conduzido na Região Noroeste do Estado, os cultivares menos produtivos foram: Impacto Vip3, P6461 H, AG8500 Pro e a variedade AL Piratininga, com média de 3.278,4; 3.084,3; 2.612,9 e 2.588,5 Kg ha⁻¹, respectivamente. Os demais cultivares, apresentaram média de produtividade superior a 3.830,1 Kg ha⁻¹, sendo assim foram classificados pelo teste de significância como os mais produtivos nessa região (Tabela 6).

Na Região Centro Norte do estado, observou-se que os cultivares mais produtivos foram, P4385 YH, 30A37 PW, 20A78 Hx, 2B433 PW, 2B512 PW, AG8500 Pro, DKB340 Pro, IAC 8390, P6461 H, BM915 Pro e GNZ9505 Pro, com média que variou de 3.883,6 a 5.033,0 Kg ha⁻¹. Os demais cultivares plantados nessa região apresentaram produtividade inferior a 3.738,01 Kg ha⁻¹, sendo assim foram classificados pelo teste de significância como os menos produtivos (Tabela 6).

O cultivar Impacto Vip3 mesmo, apresentando as menores notas de sintomas visuais de ataque para *S. frugiperda* e menor percentual de espigas atacadas por lagartas, foi classificado pelo teste de significância como um dos menos produtivos em duas regiões onde foram conduzidos os experimentos, Região Noroeste e Centro Norte. No entanto, na região do Médio Parapanema, esse cultivar foi classificado pelo teste de significância entre os mais produtivos (Tabela 6). Provavelmente essa baixa produtividade naquelas outras duas regiões está associada à adaptação que o cultivar possui. Waquil et al. (2013) ressaltam que a produtividade depende de fatores ligados à planta e de suas interações com as condições edafoclimáticas, o que faz com que varie sensivelmente de um local para outro.

Com respeito ao cultivar AL Piratininga, este foi classificado pelo teste de significância entre os menos produtivos, nas quatro localidades onde foram conduzidos os experimentos, resultados estes já esperados, pois além de ser um cultivar convencional (não expressa proteína com ação inseticida) não foi realizada

nenhuma pulverização para o controle de lagartas durante a condução dos experimentos. Neste caso, o ataque das lagartas-do-cartucho e das espigas, provavelmente foram as responsáveis pela menor produtividade das plantas nas parcelas.

O cultivar 20A78 H (Herculex[®]) que expressa a proteína inseticida Cry1F, mesmo sendo classificado entre os cultivares que apresentaram maiores notas de sintoma de ataque de *S. frugiperda* e entre os cultivares que apresentaram o maior porcentual de espigas atacadas por lagartas em pelo menos três regiões do Estado, foi classificado entre os mais produtivos pelo teste de significância em todas as regiões onde foram conduzidos os experimentos.

Provavelmente esse cultivar possui uma alta adaptabilidade em diferentes condições edafoclimáticas, sendo essa adaptabilidade proporcionada por fatores genéticos intrínsecos ao cultivar, pois mesmo com grande desfolha ocasionada por *S. frugiperda*, foi tolerante e se comportou de maneira semelhante à produtividade dos cultivares com a tecnologia Viptera, que foram pouco atacados pela praga, quando a supressão das lagartas se deu logo nos dois instares larvais iniciais, consumindo assim pouca área foliar.

4. Conclusões

O híbrido que expressa a proteína VIP3Aa20 é o mais efetivo na supressão de lagartas de *S. frugiperda* e *H. zea*;

Os cultivares avaliados possuem comportamentos genotípico e fenotípico diferentes em relação ao ataque de *S. frugiperda* nas plantas e *H. zea* nas espigas;

Dentre as tecnologias, os híbridos que expressam a proteína inseticida Cry1F são os mais suscetíveis, frente ao ataque de *S. frugiperda* e *H. zea*;

Os híbridos que expressam as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 apresentaram os melhores resultados frente ao ataque de *S. frugiperda* e frente ao ataque de lagartas nas espigas, além de apresentarem características genotípicas para maior produtividade; e,

Nas regiões Centro Norte e Noroeste do Estado de São Paulo, a pressão de ataque de lagartas nas espigas de milho é maior.

5. Referências

ARMSTRONG, C. L.; PARKER, G. B.; PERSHING, J. C.; BROWN, S. M.; SANDERS, P. R.; DUNCAN, D. R.; STONE, T.; DEAN, D. A.; DeBOER, D. L.; HART, J.; HOWE, A. R.; MORRISH, F. M.; PAJEAU, M. E.; PETERSEN, W. L.; REICH, B. J.; RODRIGUEZ, R.; SANTINO, C. G.; SATO, S. J.; SCHULER, W.; SIMS, S. R.; STEHLING, S.; TAROCHIONE, L. J.; FROMM, M. E. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 550-557. 1995.

BARBOSA, T.A.N.; SANTOS, C.A.; MENDES, S.M.; ARAUJO, O.G.; HEBACH, F.C.; DIAS, A.S.; RIBEIRO, P.E.A; VIANA, P.A. Efeito de diferentes proteínas Bt expressas em milho geneticamente modificado na sobrevivência e biomassa de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: ABMS, 2012. p. 1057-1061.

CÉLERES. **Os Benefícios Econômicos da Biotecnologia Agrícola no Brasil: 1996/97 a 2012/13**. 2013. Disponível em: <http://celeres.com.br/wordpress/wp-content/uploads/2014/01/PressRelease2013_Economico.pdf> Acesso em: 15 set. 2016.

CRUZ, J.C.; FILHO I.A.P **Cultivo do Milho**. Sistema de produção 2, n.5, 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/cultivares.htm > Acesso em 10 set 2016.

CTNBio. Comissão técnica nacional de biossegurança. **Tabela resumo – Plantas aprovadas, 2016**. Disponível em <http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display> Acesso em: 10 set 2016.

CZEPAK, C.; VIVAN, L.M.; ALBERBAZ, K.C. Praga da vez. **Cultivar: Grandes Culturas**, n.167. p.20-27, 2013.

DAVIS, F. M.; NG, S. S.; WILLIAMS, W. P. **Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm**. Mississippi: Agricultural and Forest Experiment Station, 1992. 9p. (Technical Bulletin, 186).

FARIAS, J.R.; COSTA, E.C.; GUEDES, J.V.C.; ARBAGE, A.P.; B. NETO, A.; BIGOLIN, M.; PINTO, F.F. Managing the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, and corn earworm, *Helicoverpa zea*, using *Bt* corn and insecticide treatments. **Journal of Insect Science**, Oxford, v.13, p.1-10, 2013.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review Entomology**. Palo Alto, n.43. p.701-726, 1998.

JUÁREZ, M.L.; MURÚA, M.G.; GARCÍA, M.G.; ONTIVERO, M.; VERA, M.T.; VILARDI, J.C.; GROOT, A.T.; CASTAGNARO, A.P.; GASTAMINZA, G.; WILLINK, E. Host

association of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) corn and rice strains in Argentina, Brazil, and Paraguay. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.105, p.573-582, 2012.

MICHELOTTO, M.D.; CROSARIOL NETTO, J.; FREITAS, R.S.; DUARTE, A.P.; BUSOLI, A. C. Milho transgênico (*Bt*): efeito sobre pragas-alvo e não-alvo. **Nucleus**, Ituverava, Edição Especial, p. 67-82, 2013.

MICHELOTTO, M.D.; FINOTO, E.L.; MARTINS, A.L.M.; DUARTE, A. P. Interação entre transgênicos *Bt* e inseticidas no controle de pragas-chave em híbridos de milho safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.71-79, 2011a.

MICHELOTTO, M. D.; PEREIRA, A. D.; FINOTO, E. L.; FREITAS, R. S. Controle de pragas em híbridos de milho geneticamente modificados. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v.8, n.73, p. 36-38, 2011b.

MORAES, A.R.A.; LOURENÇÃO, A.L.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**. Campinas, v.74, n.1, p.50-57, 2015.

NAIS, J.; BUSOLI, A.C.; MICHELOTTO, M.D. Comportamento de híbridos de milho transgênicos e respectivos híbridos isogênicos convencionais em relação à infestação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) em duas localidades e épocas de semeadura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.2, p.159-167, 2013.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; FARIAS, J. R.; BERNARDI, D. **Estratégias de manejo da resistência e importância das áreas de refúgio para tecnologia *Bt***. 2012. In: Diversidade e inovações na cadeia produtiva de milho e sorgo na era dos transgênicos. Ed. Maria Elisa A. G. Z. Paterniani, Aildson P. Duarte, Alfredo Tsunechiro. Campinas: Instituto Agrônomo. Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. 780p.

PERTELINI, E.; OLIVEIRA, N.C.; AZEVEDO, A.P. Desenvolvimento da lagarta-do-cartucho em híbridos de milho com diferentes tecnologias *Bt*. **Campo Digital**, Campo Mourão, v.9, n.2, p.58-65, 2014.

PIROTTA, M.Z.; MICHELOTTO, M.D.; DUARTE, A.P.; FREITAS, R.S.; MARTINS, A.L.M. Eficiência de diferentes tecnologias *Bt* no controle de pragas na safrinha: II Controle de Broca-da-Cana e de Lagartas na Espiga. In: **XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Águas de Lindóia SP. 2012.

SANTOS, A.C.; GRAVENA, R.; GRAVENA, S.; JUNIOR, N.A.; FRACASSO, G.V.; CORDIOLI, V.H.; PEREIRA, R.; DI OLIVEIRA, J.R.G. Eficiência do milho geneticamente modificado 2B688 HX, que expressa a proteína *Bt* Cry1F, no manejo de *Helicoverpa zea*. In: **X Seminário Nacional de Milho Safrinha**. Rio Verde – GO. 2009.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, New York, n.3, p.510-521, 2013.

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

CAPÍTULO 3 – EFEITO DE PROTEÍNAS Cry e VIPTERA EXPRESSAS EM HÍBRIDOS DE MILHO Bt NOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* COLETADAS EM QUATRO REGIÕES DO ESTADO DE SÃO PAULO.

RESUMO – No Brasil tem se constatado nos últimos anos o aumento significativo na adoção de híbridos de milho Bt que expressam proteínas com ação inseticida para o controle de lepidópteros, principalmente visando o controle da lagartas-do-cartucho *S. frugiperda*, atualmente considerada a principal praga deste cultivo no País. No entanto, devido a utilização de forma sucessiva, sem a adoção de técnicas de manejo da resistência como por exemplo o cultivo de áreas de refúgio, em algumas regiões, os híbridos vêm apresentando falhas no controle desta praga. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de híbridos de milho Bt que expressam proteínas, nos parâmetros biológicos de populações de *S. frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo. Os estudos foram realizados em laboratório utilizando-se como substrato de alimentação seis diferentes híbridos de milho. Para cada população os parâmetros biológicos observados foram: duração média e viabilidade da fase larval, duração média de viabilidade da fase de pupa, peso médio de lagartas aos 12 dias de idade e de pupas com 24 horas de formação, razão sexual, duração do período lagarta – adulto, período de pré-oviposição e oviposição número médio de posturas/fêmeas, longevidade de machos e fêmeas. As lagartas alimentadas pelo híbrido que expressa as proteínas Cry1Ab + VIP3Aa20 apresentaram 100% de mortalidade até o segundo instar de idade, suprimindo de maneira mais eficiente as populações da praga logo no 1º instar larval. Os híbridos que expressam as proteínas Cry1A.105 + Cry2Ab2, foram os que causaram mais efeitos adversos no desenvolvimento das lagartas das quatro regiões. Os híbridos que expressam as proteínas inseticidas Cry1F e Cry1Ab + Cry1F apresentaram baixos efeitos adversos para o desenvolvimento das lagartas, indicando que as populações presentes nestas regiões são resistentes a estas proteínas.

Palavras-chave: milho transgênico; VIP3a20; lagarta-do-cartucho;

CHAPTER 3 – EFFECT OF Cry AND VIPTERA PROTEIN EXPRESSED ON Bt CORN HYBRIDS IN THE BIOLOGICAL PARAMETERS OF POPULATIONS OF *Spodoptera frugiperda* COLLECTED IN FOUR REGIONS OF THE SÃO PAULO STATE.

ABSTRACT - In Brazil, it has been observed in recent years the significant increase in the adoption of Bt corn hybrids expressing proteins with insecticidal action for the control of lepidopteran larvae, mainly to control the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* which is considered the major pest of corn in the country. However, because the use of successive ways and without the adoption of resistance management techniques such as the cultivation of refuge areas, in some regions, the corn hybrids have been presenting deficiencies in the control of the fall armyworm. In this way, the objective of this study was to evaluate the effects of Bt corn hybrids expressing proteins in the biological parameters of *S. frugiperda* populations coming from four regions of the State of São Paulo. The studies were carried out in laboratory using six different corn hybrids as feed substrate. To each population the measured biological parameters were mean duration and viability of the larval phase, duration of pupal phase, and weight of larvae at 12 days-old and pupae with 24 hours of formation, sex ratio, duration of the larvae-adult period, pre-oviposition and oviposition period, number of postures/females, longevity of males and females. The larvae fed on Bt corn hybrid expressing the Cry1Ab + VIP3Aa20 proteins presented 100% of mortality until the second instar suppressing more efficiently the populations of the pest after the first instar of larvae. The corn hybrids expressing Cry1A.105 + Cry2Ab2 proteins caused the most adverse effects on the development of larvae coming from the four regions. The corn hybrids expressing the Cry1F and Cry1Ab + Cry1F proteins caused the least adverse effects during the development of larvae indicating that the populations present in these regions are resistant to this protein.

Key words: transgenic corn, VIP3a20, fall armyworm.

1. Introdução

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga, tem a capacidade de se alimentar por mais de 80 espécies de plantas economicamente importantes, dentre elas algodão, milho e soja (MONNERAT et al., 2006; BARROS et al., 2010).

No Brasil esta espécie é a principal praga da cultura do milho, sendo uma espécie considerada de difícil controle, principalmente quando se utiliza o controle químico, pela dificuldade de atingir as lagartas no interior do cartucho e devido à resistência de populações a diversos grupos de inseticidas. Devido a estes fatores vem crescendo a adoção de cultivos geneticamente modificados que expressam uma ou mais proteínas inseticidas para o controle de lepidópteros. No Brasil, na safra 2015/2016, a área total cultivada por milho transgênico foi em torno de 13,5 milhões de hectares (CÉLERES, 2016), dos quais grande maioria é constituída pela utilização de plantas que expressam proteínas Bt com ação inseticida.

Em 2007 ocorreu a primeira liberação comercial no Brasil para o cultivo de milho geneticamente modificado, com o evento MON 810 que expressa a proteína inseticida Cry1Ab. Até os dias atuais foram liberados comercialmente 32 eventos de milho geneticamente modificado no Brasil, dos quais 27 apresentam diferentes proteínas inseticidas em diferentes tecnologias visando ao controle de pragas como *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850), *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) (CTNBio, 2016).

Apesar dos benefícios ecológicos do uso do milho geneticamente modificado como: redução na aplicação de inseticidas, principalmente os inseticidas de largo espectro e aumento de produtividade (HUANG et al., 2002); maior proteção de grãos armazenados contra os insetos-praga (GILES et al., 2000) e menores níveis de micotoxinas devido à redução no dano causado pelas pragas (MUNKVOLD et al., 1999; DOWD, 2000), existem possíveis problemas relativos ao uso inadequado de plantas geneticamente modificadas, dentre estes, os principais são: seleção de populações de insetos resistentes às proteínas Bt e impacto das proteínas Bt sobre as espécies não-alvo como observado por Funichello et al. (2012).

Ao longo dos anos, diversos estudos realizados sob condições de campo, como os de Michelotto et al. (2011, 2013), Lourenção; Fernandes (2013), Waquil et al. (2013) e Moraes et al. (2015), têm demonstrado supressão sobre *S. frugiperda*. Entretanto, nas últimas safras, os híbridos Bt pioneiros disponíveis no mercado estão com baixos níveis em relação à eficiência de controle desta praga, demonstrando já há alguns anos resistência de populações às plantas Bt.

Desta forma, há a necessidade de realizar ensaios biológicos em laboratório, visando identificar os efeitos adversos de híbridos transgênicos, que expressam diferentes proteínas tóxicas, na sobrevivência, desenvolvimento e reprodução desta importante praga. Estudos de acompanhamento do efeito dos híbridos transgênico Bt pós-liberação no comportamento e biologia dos insetos-praga são necessários e importantes para o desenvolvimento de estratégias eficientes dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas, procurando-se manejar populações que toleram à tecnologia.

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos eventos transgênicos de milho, que expressam diferentes proteínas inseticidas, sobre os aspectos biológicos de quatro populações de *S. frugiperda* em laboratório, oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo.

2. Material e métodos

2.1 Descrição do local e do cultivo

Os experimentos foram realizados na estação experimental e no laboratório de entomologia do Instituto Mato-grossense do Algodão (IMAmt), localizada em Primavera do Leste, MT, na latitude 15° 31' 49" S e longitude 54° 11' 28" W, a 620 m de altitude.

Os experimentos foram conduzidos entre janeiro e setembro de 2016 e, para isto utilizou-se uma área de 1.200m², onde foram semeados de forma escalonada os híbridos de milho, DKB 390 (Convencional), P3630 H (Herculex[®] que expressa a proteína inseticida Cry1F), 30F35 HY (Intrasect[®] que expressa às proteínas inseticidas Cry1Ab + Cry1F), DKB 390 VTPro (Pro[®] que expressa as proteínas

inseticidas Cry1A.105 + Cry2Ab2), 2B688 PW (PowerCore® que expressa as proteínas inseticidas Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) e Impacto VIP3 (Viptera 3® que expressa as proteínas inseticidas Cry1Ab + VIP3Aa20), destinadas ao cultivo e desenvolvimento das plantas e às coletas de folhas para a realização dos experimentos em laboratório.

As práticas culturais, tais como adubação de plantio e cobertura, foram realizadas de acordo com as exigências de cada híbrido. A semeadura foi realizada de forma manual adotando-se espaçamento entre linhas 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 milho.

2.2 Criação de manutenção de populações de *Spodoptera frugiperda*

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

Para a obtenção das populações de *S. frugiperda* utilizadas para iniciar a criação em laboratório, foram coletadas lagartas de vários tamanhos nas plantas de milho Bt em áreas agrícolas localizadas em quatro regiões distintas do estado de São Paulo. Os municípios, a região e as coordenadas geográficas dos locais de coleta podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1. Locais de coletas de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em quatro regiões do estado de São Paulo, Brasil.

Município	Região	Coordenadas geográficas
Maracá	Médio Paranapanema	22°36'39"S, 50°40'1"O
Pindorama	Centro Norte	21°11'9"S, 48° 54'25"O
Votuporanga	Noroeste	20°25'22"S, 49° 58'22"O
Guáira	Norte	20°19'16"S, 48°18'23" O

Em laboratório, as lagartas coletadas nas quatro regiões foram separadas, identificadas, e individualizadas, sendo oferecido para alimentação a dieta artificial a

base de feijão adaptada de Greene et al. (1976). A alimentação a base da dieta foi oferecida até as lagartas completarem toda a fase larval. As pupas obtidas foram separadas por sexo, utilizando-se a metodologia proposta por Butt e Cantu (1962).

Assim que emergidos, os adultos de cada localidade foram acondicionados em gaiolas constituídas por tubos de PVC de 15 cm de diâmetro x 20 cm de altura, cuja parte superior foi coberta 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 alimentação dos adultos utilizou-se solução de mel a 10%, embebida em chumaço de algodão hidrófilo, sendo esta colocada no fundo da gaiola, em um recipiente cilíndrico plástico de 3 cm de diâmetro x 2 cm de altura. Esta solução foi trocada diariamente para não haver problemas de fermentação e contaminação por microrganismos.

A cada 24 horas, as gaiolas foram trocadas e as posturas obtidas foram acondicionadas em placas de Petri de 0,90 x 15 mm com papel filtro ao fundo, sendo este umedecido com água destilada, para evitar a dessecação dos ovos. Após a eclosão das lagartas, estas foram transferidas para copos descartáveis contendo um cubo de dieta artificial, para minimizar o efeito das exigências nutricionais e possível influência no desenvolvimento larval das populações estudadas, foram individualizadas 300 lagartas por localidade.

Após as lagartas atingirem a fase de pupa, repetiu-se os procedimentos descritos acima para a obtenção de uma nova geração, sendo essa geração utilizada para a realização dos experimentos.

2.3 Parâmetros biológicos de quatro populações de *Spodoptera frugiperda* criadas em diferentes híbridos de milho Bt.

Para a obtenção dos parâmetros biológicos do inseto, foram utilizadas lagartas neonatas (recém eclodidas) provenientes das quatro criações de manutenção de *S. frugiperda*, oriundas de cada região. O experimento foi constituído por 6 tratamentos, representados pelos híbridos de milho DKB 390 (Convencional), P3630 H (Herculex®),

30F35 HY (Intrasect®), DKB 390 VTPro (Pro), 2B688 PW (PowerCore®) e Impacto VIP3 (Viptera 3®).

2.3.1 Fases de larva e de pupa

Para a avaliação dos parâmetros biológicos referentes à fase larval, para cada população, e para cada híbrido (tratamento), utilizaram-se 100 lagartas neonatas (repetições), totalizando 600 lagartas/população. As lagartas foram individualizadas em placas de Petri 90 x 15mm, onde para cada lagarta foi oferecido um pedaço de folha de tamanho aproximado 80 x 40 mm de seu respectivo híbrido, além disso as placas revestidas com papel filtro umedecido para evitar a desidratação do pedaço de folha.

As folhas utilizadas para alimentação das lagartas foram coletadas no campo experimental em cada área de cada híbrido respectivo (tratamento) e sempre coletando-se as folhas mais novas da planta. As folhas oferecidas (ad-libitum) foram trocadas diariamente, de modo a não haver falta de alimento, onde também foram realizadas a higienização e remoção de fezes até as lagartas. As observações de instares larvais e mortalidade foram realizadas diariamente até as lagartas atingirem a fase de pupa (Figura 1).

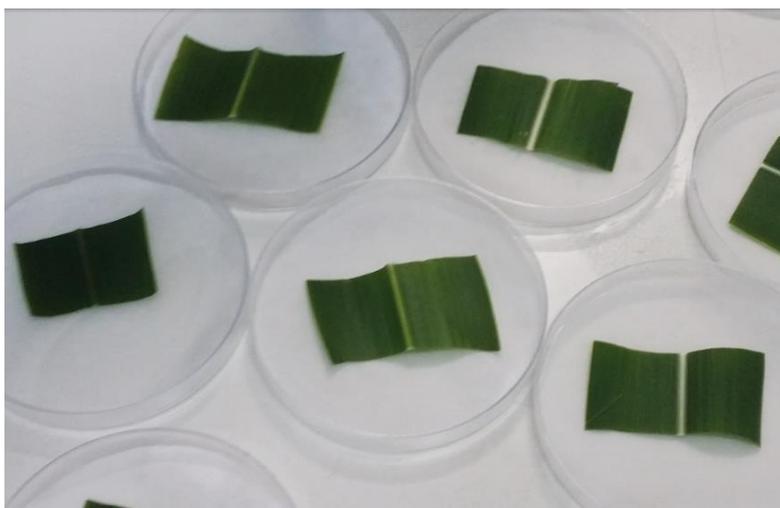


Figura 1. Placas de Petri contendo pedaços de folhas de diferentes híbridos de milho, utilizados para estudos biológicos de populações de *Spodoptera frugiperda* nas fases de larva e de pupa. Primavera do Leste – MT, 2016.

Ao atingirem a fase de pupa, as pupas foram pesadas e separadas por sexo, baseado em Butt e Cantu (1962) e observadas até a emergência dos adultos. 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 12 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 e a razão sexual foi obtida através da fórmula: $rs = n^{\circ} \text{ de fêmeas} / n^{\circ} \text{ de fêmeas} + n^{\circ} \text{ de machos}$.

2.3.2 Fase adulta

Para a avaliação dos parâmetros biológicos referentes à fase adulta, utilizaram-se para cada cultivar (tratamentos), dez casais (repetições) onde foram individualizados 1 casal por gaiola. As gaiolas utilizadas eram cilíndricas, constituídas 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 facilitando com isso a posterior coleta diária dos ovos.

As coletas foram realizadas diariamente para contagem de posturas 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. Os parâmetros biológicos analisados foram: período de pré-oviposição e oviposição, número médio total de posturas/fêmea, viabilidade de ovos e longevidade de machos e fêmeas.

2.4 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). Para atender as necessidades de normalidade e homocedasticidade, antes de proceder as análises estatísticas, os

dados obtidos de peso na fase de larva e de pupa foram submetidos à transformação de $(\sqrt{x + 0,5})$ e submetidos a análise de Variância.

3. Resultados e Discussão

Para as lagartas de *S. frugiperda*, oriundas das quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com o híbrido de milho que expressa as proteínas inseticidas (Cry1Ab + VIP3Aa20), observou-se 100% de mortalidade logo no 1º instar larval (2 dias de idade), demonstrando que a proteína VIP3Aa20 é eficiente para a supressão dessa praga. Sendo assim não foi possível realizar as análises comparativas com os parâmetros biológicos, para lagartas conduzidas neste tratamento.

Peterlini et al. (2014) ao avaliar o desenvolvimento de *S. frugiperda* utilizando híbridos de milho de diferentes tecnologias, também observaram mortalidade de 100% das lagartas logo nas primeiras 48 horas de idade quando estas foram alimentadas com folhas de milho com expressão da proteína inseticida VIP3Aa20.

Ao observar a duração média da fase larval de lagartas sobreviventes de *S. frugiperda*, notou-se que as populações oriundas das quatro regiões do estado de São Paulo, se comportaram de maneira diferente quando utilizadas folhas de híbrido com expressão de diferentes proteínas inseticidas (Tabela 2).

Em todas as populações foram observados menores médias de duração da fase larval quando as lagartas foram alimentadas pelo híbrido de milho convencional, sendo a duração média do ciclo larval de 17,1 dias para lagartas da região do Médio Paranapanema, 17,1 dias para lagartas da região Norte, 17,0 dias para lagartas da região Noroeste e 17,8 dias para lagartas da região Norte do estado (Tabela 2).

Para lagartas oriundas da região do Médio Paranapanema, observou-se maior média de duração da fase larval, quando as lagartas alimentaram-se de folhas dos híbridos que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e (Cry1F), com a duração média de 21,2; 20,6 e 20,4 dias, respectivamente (Tabela 2). Já para a população oriunda da região Noroeste, observou-se maior média de duração da fase larval para lagartas alimentadas com folhas dos híbridos que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), (Cry1Ab + Cry1F) e

(Cry1A.105 + Cry2Ab2) com média de duração de 21,07; 20,62 e 19,87 dias, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Duração média (dias) \pm Desvio Padrão, da fase larval de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	C. Norte	Noroeste	Norte
Convencional	17,2 \pm 1,1 c	17,1 \pm 1,1 d	17,0 \pm 1,0 c	17,8 \pm 1,9 c
Cry1Ab + Cry1F	18,0 \pm 1,5 b	21,4 \pm 3,9 b	20,6 \pm 3,0 a	18,6 \pm 1,6 b
Cry1F	20,4 \pm 2,5 a	19,6 \pm 3,3 c	18,3 \pm 3,3 b	18,9 \pm 1,7 ab
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	21,2 \pm 2,5 a	25,5 \pm 5,5 a	21,1 \pm 2,9 a	19,8 \pm 1,7 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2	20,6 \pm 3,1 a	25,7 \pm 3,7 a	19,9 \pm 2,3 a	19,7 \pm 1,6 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	19,30	20,90	18,87	18,86
Teste F	55,47**	77,76**	29,91**	17,21**
CV (%)	11,39	15,84	12,97	9,16

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

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Nas demais populações, observou-se maior média para a duração da fase larval, quando as lagartas foram alimentadas com folhas dos híbridos que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2), sendo que a duração foi de 19,8 e 19,7 dias para população oriunda da região Norte e de 25,5 e 25,7 dias para a população oriunda da região Centro Norte (Tabela 2).

De modo geral, às lagartas oriundas das quatro regiões do estado, quando foram alimentadas com folhas de híbridos de milho geneticamente modificados, independentemente das proteínas expressas, apresentaram atraso de desenvolvimento larval, ou seja, apresentaram maior duração da fase larval, quando comparadas com as lagartas que se alimentaram de híbridos de milho convencional. Buntin et al. (2001) e Fernandes (2003), também observaram resultados semelhantes para lagarta de *S. frugiperda* alimentadas por folhas de híbridos de milho geneticamente modificado. Dutton et al. (2005) ao avaliar o efeito de plantas de milho Bt sobre *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae), também constataram aumento do período de desenvolvimento larval, quando lagartas foram

alimentadas com milho Bt, indicando que a exposição contínua das lagartas às toxinas tem efeito deletério para o desenvolvimento larval.

No presente experimento nota-se que, a população do Médio Paranapanema, foi menos afetada quando às lagartas alimentaram-se com folhas do híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F), para as populações oriundas das regiões Centro Norte e Noroeste, observaram-se menores efeitos quando as lagartas se alimentaram com folhas do híbrido que expressa a proteína Cry1F de forma isolada. Já para a população oriunda da região Norte, os menores efeitos foram observados quando as lagartas foram alimentadas com folhas dos híbridos que expressam a proteína (Cry1F) e (Cry1Ab + Cry1F) (Tabela 2).

Estes resultados demonstram que as populações oriundas das diferentes regiões respondem de forma diferente às proteínas expressas por cada híbrido, possivelmente, está relacionada com a pressão de seleção exercida devido ao uso massivo de plantas que expressam uma mesma proteína em cada região, e o não uso do milho convencional na estratégia denominada de refúgio.

Em relação à viabilidade da fase larval de *S. frugiperda*, também observou-se que as populações se comportaram de maneira diferente quando alimentadas nos diferentes híbridos (Tabela 3). Lagartas oriundas das regiões do Médio Paranapanema, Centro Norte e Noroeste, apresentaram significativamente maior viabilidade larval quando alimentadas com folhas do híbrido de milho convencional, sendo essa viabilidade de 96, 93 e 98%, respectivamente (Tabela 3).

Já para as lagartas oriundas da região Norte do Estado, observou-se que todos os híbridos, com exceção do híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), proporcionaram alta viabilidade larval, ou seja, elevados índices de sobrevivência das lagartas, sendo de 92% para o híbrido de milho convencional, 85% para o híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2), 80% para o híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) e 77% para o híbrido de milho que expressa a proteína (Cry1F) (Tabela 3).

Estes resultados demonstram que nessa região as proteínas expressas por estes híbridos, não apresentaram efeito letal satisfatório sobre lagartas de *S. frugiperda*, confirmando a constatação de Mendes e Waquil (2009), que a utilização de híbridos de biotecnologias diferentes, é possível que o produtor encontre em

condições de campo respostas diferenciadas em relação à supressão de *S. frugiperda*.

Tabela 3. Viabilidade média (%) da fase larval de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	96 a	93 a	98 a	92 a
Cry1Ab + Cry1F	89 ab	71 b	60 b	80 a
Cry1F	86 ab	80 ab	49 bc	77 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	64 c	37 c	29 d	40 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	80 b	50 c	36 cd	85 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	83	66	54	75
Teste F	11,16**	27,71**	38,53**	26,12**
CV (%)	43,56	64,91	80,35	53,01

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

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Nas populações oriundas das quatro regiões, observou-se que lagartas alimentadas com folhas do híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), apresentaram significativamente menor viabilidade larval em relação às alimentadas com folhas dos demais híbridos (Tabela 3). Bortolloto et al. (2016) utilizando populações oriundas de criação massal por cerca de vinte gerações, constataram 100% de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* e *S. eridania* quando alimentadas com grãos de milho Bt que expressam as proteínas inseticidas Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F, resultados estes divergentes dos encontrados no presente experimento. Possivelmente os insetos utilizados por estes autores nesse experimento, estavam suscetíveis a essa proteína inseticida devido ao grande número de gerações passadas em laboratório.

Além da baixa viabilidade larval constatada para lagartas que se alimentaram das folhas do híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), lagartas oriundas das regiões Centro Norte e Noroeste apresentaram baixa viabilidade da fase larval quando alimentadas pelo híbrido que expressa as proteínas

(Cry1A.105 + Cry2Ab2), sendo de 50 e 36% respectivamente, indicando que nessas regiões, estes híbridos apresentam maiores efeitos letais para esta espécie. Em contrapartida, para as populações oriundas das Regiões do Médio Paranapanema e Norte do estado, a viabilidade da fase larval observada para *S. frugiperda* quando alimentada no híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) foi de 80 e 85% respectivamente (Tabela 3), demonstrando que nestas regiões, as proteínas expressas por estas plantas já não apresentam efeito letal satisfatório para a supressão da espécie.

Ao contrário das condições locais observadas nas regiões do Médio Paranapanema e Norte do Estado (cultivos de milho de forma sucessiva), os locais em que foram coletadas as populações nas regiões Centro Norte e Noroeste, apresentavam alta diversidade de cultivos. Sendo assim, a pressão de seleção é mais baixa sobre as populações de *S. frugiperda* nestes locais, impactando em menor seleção de populações resistentes a essas proteínas inseticidas.

Ao verificar a viabilidade larval de *S. frugiperda* quando alimentadas com folhas do híbrido de milho que expressa a proteína Cry1F, constatou-se que as lagartas oriundas das regiões do Médio Paranapanema, Centro Norte e Norte do estado apresentaram alta viabilidade larval, sendo de 86%, 80% e 77%, respectivamente (Tabela 2). Araujo et al. (2014), ao avaliarem o desenvolvimento de dois biótipos de *S. frugiperda*, sendo um coletado em arroz e o outro coletado em cultivos de milho no estado do Rio Grande do Sul, constataram 100% de mortalidade das lagartas de ambos os biótipos (milho e arroz) quando estas foram alimentadas com folhas de híbridos de milho que expressam a proteína inseticida Cry1F, resultados estes diferentes dos observados nas populações de *S. frugiperda* das quatro regiões do estado de São Paulo.

Além disso, as lagartas oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Norte do estado, também apresentaram alta viabilidade larval quando alimentadas com folhas do híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) sendo de 89% e 77%, respectivamente (Tabela 3). Esses resultados indicam que nessas regiões, os híbridos de milho, que expressam a proteína inseticidas Cry1F de forma isolada e (Cry1Ab + Cry1F), não apresentam supressão satisfatória de *S. frugiperda* no campo.

Vários estudos, como os de Lynch et al. (1999); Fernandes et al. (2003); Mendes et al. (2011), demonstram que a proteína inseticida Cry1Ab por si só apresenta efeito moderado de controle sobre *S. frugiperda*. Desta forma Storer et al. (2012), sugerem que um dos fatores que contribuem para o sucesso do manejo da resistência de insetos é a utilização de plantas Bt com mais de uma proteína ativa.

Apesar dessa piramidação, observou-se no presente experimento, que mesmo plantas que expressam mais de uma proteína inseticida proporcionaram alta viabilidade da fase larval de *S. frugiperda*, principalmente nas populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Norte do estado. Estas regiões apresentam características similares, com cultivos de milho sendo realizados de forma sucessiva e pouca rotação de cultivos.

Possivelmente essa alta viabilidade larval está associada ao intensivo uso de plantas que expressam estas proteínas nestas regiões, na qual impacta em maior pressão de seleção sobre populações de *S. frugiperda* ali presentes. Desta forma, às lagartas oriundas destas populações já apresentam alto grau de resistência a estas proteínas.

Ali et al. (2006) e Tabashnik et al. (2008) evidenciaram que a seleção 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 da evolução da resistência em condições de campo. Farias et al. (2014) detectaram populações de *S. frugiperda* resistentes a proteína inseticida Cry1F no Brasil. Estes autores destacam que as condições ambientais e o cultivo de milho continuamente durante o ano inteiro, aumentou a pressão de seleção sobre as populações de *S. frugiperda* presentes, sendo estas condições determinantes para a evolução desta resistência em curto período de tempo.

Com relação ao peso médio das lagartas que estavam vivas aos 12 dias de idade, foi observado que as populações oriundas das quatro regiões também se comportaram de maneira diferente quando alimentadas por folhas dos diferentes híbridos (Tabela 4).

Para a população oriunda da região do Médio Paranapanema, foi observado maior peso larval das lagartas alimentadas com os híbridos convencional e que expressam as proteínas (Cry1Ab + Cry1F), com média de peso de 176,4 e 153,6mg,

respectivamente (Tabela 4), constatação esta, semelhante às encontradas por Tang et al. (1999) e Viana et al. (2014), ao estudarem a biologia de outros lepidópteros como *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando plantas Bt e não Bt.

Estes resultados evidenciam que as lagartas dessa região estão mais adaptadas às proteínas inseticidas Cry1Ab e Cry1F, pois mesmo está proteína estando presente na planta, as lagartas se desenvolveram de maneira semelhante às lagartas alimentadas com folhas de plantas não Bt, indicando, portanto, uma possível resistência desta população a estas proteínas.

Tabela 4. Peso médio (mg) \pm Desvio Padrão de lagartas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	C. Norte	Noroeste	Norte
Convencional	176,4 \pm 66,9 a	185,0 \pm 59,4 a	192,1 \pm 61,3 a	183,6 \pm 43,9 a
Cry1Ab + Cry1F	153,6 \pm 83,6 a	89,9 \pm 58,1 b	148,6 \pm 78,8 b	84,2 \pm 54,9 c
Cry1F	82,8 \pm 72,9 b	103,0 \pm 59,7 b	132,2 \pm 91,7 b	144,5 \pm 60,0 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	79,4 \pm 51,0 b	27,9 \pm 28,0 c	64,8 \pm 50,0 d	68,1 \pm 25,3 c
Cry1A.105 + Cry2Ab2	102,9 \pm 64,9 b	31,5 \pm 22,6 c	101,7 \pm 57,0 c	94,2 \pm 51,0 c
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	119,0	87,5	127,9	114,9
Teste F	34,83**	101,18**	59,99**	30,91**
CV (%)	5,47	4,29	3,96	5,43

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados de peso na fase larval foram transformados $\sqrt{(x+0,5)}$.

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar

Nas populações oriundas das demais regiões do estado, as maiores médias de peso larval foram observadas para lagartas alimentadas pelo híbrido convencional, sendo de 185,0 mg para a população oriunda do Centro Norte, 192,1 mg para população oriunda do Noroeste e 183,6 mg para população oriunda do Norte do estado (Tabela 4). Estes resultados corroboram aos constatados por Mendes et al. (2011) e Araújo et al. (2014), ao avaliarem o desenvolvimento de *S. frugiperda* utilizando híbridos de milho Bt e não Bt.

Ao verificar quais híbridos proporcionaram a menor média de peso larval, observou-se que para as lagartas oriundas da região do Médio Paranapanema, a menor média de peso foi para lagartas alimentadas pelos híbridos, que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), (Cry1F) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2). Para a população oriunda da região Centro Norte do estado, as menores médias de peso larval foram observadas para lagartas alimentadas pelos híbridos que expressam as proteínas, (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2) (Tabela 4).

Para a população oriunda do Noroeste do estado, somente lagartas alimentadas pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram significativamente a menor média de peso larval. Para população oriunda da região Norte do estado as menores médias de peso larval foram observadas para lagartas alimentadas pelos híbridos que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), (Cry1Ab + Cry1F) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2) (Tabela 4).

De modo geral, observa-se que lagartas que se alimentaram dos híbridos de milho que expressam as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram o desenvolvimento mais lento, pois foi constatado nestas lagartas menor peso e maior duração do período larval. Lynch et al. (1999) ao avaliar o efeito da proteína Cry1Ab expressa em híbridos de milho para *S. frugiperda*, constataram que a proteção oferecida por essa toxina na planta ocorre, primariamente, pela redução da taxa de desenvolvimento e ganho de peso de lagartas. Estes mesmos autores observaram menor consumo foliar de lagartas por folhas de milho Bt, indicando que após a mordida de prova, a lagarta reduziu a atividade de alimentação, consumindo menos área foliar.

Possivelmente essa redução na alimentação infere em menor ganho de peso, impactando em maior tempo para o desenvolvimento destas lagartas. Isso em condições de campo, proporciona maior tempo de exposição destes insetos a fatores bióticos e abióticos, na qual podem auxiliar no controle natural desta espécie.

Ao observar o parâmetro peso de pupas com 24 horas de idade, constatou-se que as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e do Centro Norte, se comportaram de maneira semelhante frente aos diferentes híbridos (Tabela 5). Foi observado que lagartas alimentadas durante a fase larval com folhas do híbrido

convencional e do híbrido que expressa a proteína inseticida Cry1F de forma isolada, apresentaram significativamente maior peso das pupas em relação às lagartas alimentadas durante a fase larval pelos demais híbridos (Tabela 5).

Para as populações oriundas das regiões Noroeste e Norte do estado, foi observado que lagartas alimentadas durante a fase larval pelo híbrido convencional, apresentaram significativamente maior peso de pupa em relação às lagartas alimentadas por híbridos que expressam proteínas inseticidas (Tabela 5). No entanto, para população oriunda da região Norte do estado, lagartas alimentadas durante a fase larval por folhas do híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) apresentaram significativamente o menor peso de pupa, com peso médio de 151,7mg (Tabela 5).

Tabela 5. Peso médio (mg) \pm Desvio Padrão, de pupas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	193,6 \pm 11,7 a	199,2 \pm 13,4 a	191,1 \pm 11,3 a	191,3 \pm 19,2 a
Cry1Ab + Cry1F	167,6 \pm 25,5 b	173,3 \pm 29,0 b	165,7 \pm 29,4 b	164,8 \pm 31,1 b
Cry1F	190,4 \pm 24,8 a	195,1 \pm 27,9 a	167,1 \pm 21,7 b	165,6 \pm 25,1 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	159,1 \pm 23,9 b	171,5 \pm 29,9 b	164,0 \pm 27,1 b	169,9 \pm 26,1 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	162,8 \pm 24,3 b	170,8 \pm 22,6 b	160,9 \pm 29,3 b	151,7 \pm 22,8 c
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	174,7	181,9	169,8	168,7
Teste F	42,89**	22,23**	21,63**	29,40**
CV (%)	1,66	1,80	1,69	1,87

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados de peso na fase larval foram transformados $\sqrt{(x+0,5)}$.

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar

De modo geral, com exceção de *S. frugiperda* alimentadas durante a fase larval pelo híbrido que expressa a proteína (Cry1F) oriundas das populações das regiões do Médio Paranapanema e Centro Norte, as médias de peso de pupa foram semelhantes às constatadas para o híbrido convencional. Por outro lado, todas as demais lagartas que se alimentaram durante a fase larval por híbridos de milho Bt, apresentaram

significativamente menor peso de pupas. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Williams et al. (1997), Meyers et al. (1997), Buntin et al. (2001), Fernandes (2003), Funichello et al. (2013) e Viana et al. (2014), em estudos realizados com Noctuides como *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* e *C. includens*. Provavelmente essa diferença no peso das pupas se deu pela influência negativa exercida pelas proteínas Bt, no comportamento alimentar dos insetos durante a fase larval.

Ao ser observado o parâmetro duração média do período de pupa das fêmeas de *S. frugiperda*, constatou-se diferenças entre as populações, quando lagartas foram alimentadas pelos diferentes híbridos durante a fase larval. Para as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Centro Norte do estado, constatou-se que lagartas alimentadas durante a fase larval pelo híbrido convencional, apresentaram média menor de duração da fase de pupa em relação as lagartas alimentadas nos demais híbridos (Tabela 6).

No entanto, ao observar o híbrido que proporcionou maior duração da fase de pupa, para população oriunda do Médio do Paranapanema, observou-se que as lagartas alimentadas durante a fase larval no híbrido que expressa a proteína (Cry1F) apresentou maior duração do período de pupa. Em contrapartida, na população oriunda da região Noroeste, as lagartas que se alimentaram durante a fase larval com folhas do híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram maior duração da fase de pupa (Tabela 6).

Para a população oriunda da região Noroeste do estado, diferente do que foi observado para população oriunda da região Centro Norte, as lagartas que se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram menor média de duração da fase de pupa com média de 8,7 dias (Tabela 6). Já para população oriunda da região Norte do estado não foi observada diferenças significativas na duração da fase de pupa em fêmeas, proporcionadas pelos híbridos (Tabela 6).

Tabela 6. Duração média (dias) \pm Desvio Padrão do estágio de pupa de fêmeas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	9,1 \pm 0,6 b	9,1 \pm 0,9 b	9,5 \pm 0,8 a	9,3 \pm 1,2 a
Cry1Ab + Cry1F	9,3 \pm 0,9 ab	9,7 \pm 1,0 ab	9,3 \pm 1,3 a	8,8 \pm 0,8 a
Cry1F	9,7 \pm 1,2 a	9,6 \pm 1,0 ab	8,8 \pm 0,8 ab	9,3 \pm 0,7 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	9,2 \pm 1,2 ab	10,2 \pm 1,7 a	8,7 \pm 0,8 b	9,2 \pm 1,4 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2	9,3 \pm 0,8 ab	9,5 \pm 1,0 ab	9,6 \pm 0,8 a	9,2 \pm 1,2 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	9,29	9,48	9,31	9,18
Teste F	2,51*	3,65**	3,60**	1,15 ^{ns}
CV (%)	10,22	10,94	10,13	11,89

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

^{ns} Não significativo; * Significativo a 5%; ** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Observando o período de duração da fase de pupa em machos de *S. frugiperda*, também constatou-se diferenças entre as populações das diferentes regiões quando estas foram alimentadas durante a fase larval, por híbridos expressando diferentes proteínas inseticidas.

Para população oriunda da região do Médio do Paranapanema, constatou-se menor período de duração da fase pupa em machos alimentados durante a fase larval por folhas do híbrido de milho convencional, com média de duração de 9,3 dias. Já para população oriunda da região noroeste constatou-se prolongamento da fase de pupa quando os machos se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido de milho que expressa a proteína (Cry1F), com média de duração de 10,8 dias (Tabela 7).

Para populações oriundas das demais localidades, não foram constatadas diferenças na duração da fase de pupa para machos de *S. frugiperda* alimentados durante a fase larval com folhas de diferentes híbridos de milho (Tabela 7).

De modo geral, independentemente da proteína expressa pelas plantas, ao ser comparada a duração da fase de pupa entre machos e fêmeas, foi constatada maior duração da fase de pupa para machos de *S. frugiperda* (Tabelas 6 e 7). Essa diferença na duração da fase pupal entre os sexos, já havia sido relatada em outros trabalhos como os realizados por Giolo et al. (2001); Fernandes (2003) e Rosa et al. (2012).

Tabela 7. Duração média (dias) \pm Desvio Padrão do estágio de pupa de machos de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	9,3 \pm 0,6 b	10,1 \pm 0,7 a	9,6 \pm 0,7 b	9,7 \pm 1,1 a
Cry1Ab + Cry1F	10,3 \pm 0,9 a	10,6 \pm 1,5 a	9,9 \pm 0,8 b	9,1 \pm 1,0 a
Cry1F	10,7 \pm 1,3 a	10,2 \pm 1,3 a	10,8 \pm 0,8 a	9,3 \pm 0,9 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	10,2 \pm 1,1 a	11,2 \pm 2,2 a	9,7 \pm 1,7 b	9,5 \pm 1,5 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2	10,4 \pm 1,1 a	10,6 \pm 1,3 a	9,8 \pm 1,1 b	9,4 \pm 0,9 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	10,14	10,44	9,94	9,41
Teste F	12,73**	2,19 ^{ns}	5,77**	1,56 ^{ns}
CV (%)	10,05	12,75	9,83	11,15

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

^{ns} Não significativo; ** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Bavaresco et al. (2004) constataram que a ocorrência de protogenia é um mecanismo que reduz a probabilidade de acasalamento entre indivíduos da mesma postura, permitindo assim que as fêmeas, emergindo antes que os machos, voem para outros locais e acasalem com machos provenientes de outras posturas, reduzindo assim a ocorrência de consanguinidade.

Ao observar os dados de viabilidade das pupas (independente do sexo) de *S. frugiperda*, constatou-se que as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema, Noroeste e Norte do estado apresentaram maior viabilidade de pupas, quando as lagartas se alimentaram durante a fase larval com folhas do híbrido de milho convencional (Tabela 8). Fernandes (2003), constatou resultados semelhantes ao avaliar o efeito de milho geneticamente modificado sobre a viabilidade da fase de pupa de *S. frugiperda*. Portanto, sugere-se que esta redução na viabilidade, pode estar relacionada à produção de hormônios relacionados à pupação das lagartas que não foram produzidos satisfatoriamente no desenvolvimento do inseto ocasionado pela presença das proteínas Cry.

Já para a população oriunda da região Centro Norte do estado, constatou-se que o híbrido que expressa a proteína Cry1F de forma isolada e o híbrido que expressa as

proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2), não reduziram de forma significativa a viabilidade pupal (Tabela 8).

Com relação ao efeito das proteínas na viabilidade pupal para as populações oriundas das diferentes regiões, constatou-se que, para região do Médio Paranapanema a menor viabilidade de pupas foi proporcionada quando as lagartas se alimentaram durante a fase larval pelos híbridos de milho que expressam as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) e (Cry1A.105 + Cry2Ab + Cry1F) (Tabela 8).

Para a população oriunda da região Noroeste, os maiores efeitos deletérios na biologia de *S. frugiperda* foram observados quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelos híbridos que expressam as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) e (Cry1F). Entretanto para a população oriunda da região Norte do estado, observou-se que além dos híbridos que expressam essas proteínas, o híbrido que expressa (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) também foi responsável pela redução da viabilidade pupal, e para a população oriunda do Centro Norte, a redução foi significativa somente quando as lagartas se alimentaram com o híbrido que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) (Tabela 8). Estes resultados confirmam a hipótese que o efeito exercido pelas proteínas presentes em cada híbrido é diferente para as populações de lagartas de cada região.

Tabela 8. Viabilidade média (%) da fase de pupa de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Parana.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	97,9 a	98,9 a	96,9 a	97,8 a
Cry1Ab + Cry1F	85,4 b	73,2 b	83,3 b	85,0 b
Cry1F	89,5 ab	91,2 a	81,6 b	85,7 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F	82,8 b	83,8 ab	93,1 ab	85,0 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	92,5 ab	92,0 a	94,4 ab	88,2 ab
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	90,12	88,82	90,44	89,04
Teste F	3,36**	7,78**	3,51**	2,59*
CV (%)	32,78	34,15	31,98	34,84

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

* Significativo a 5%; ** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Em relação à duração do período larva-adulto de *S. frugiperda* observou-se que as populações se comportaram de maneira diferente quando alimentadas pelos diferentes híbridos (Tabela 9).

Para as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e da Região Norte do estado, foi observado menor duração do período larva-adulto quando as lagartas se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido de milho convencional e pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) (Tabela 9).

Na Região Noroeste do Estado, o menor período larva-adulto foi observado, quando as lagartas se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido convencional e pelo híbrido que expressa a proteína (Cry1F). Já para região Centro Norte o menor período de desenvolvimento foi observado quando as lagartas se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido convencional, com média de duração de 28,42 dias (Tabela 9).

Tabela 9. Duração média (dias) \pm Desvio Padrão do período larva - adulto de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	27,8 \pm 1,3 a	28,4 \pm 2,7 a	27,2 \pm 1,3 a	27,3 \pm 2,1 a
Cry1Ab + Cry1F	27,5 \pm 1,8 a	30,9 \pm 4,4 b	29,9 \pm 3,4 b	27,7 \pm 1,7 a
Cry1F	30,4 \pm 2,7 b	29,5 \pm 2,6 ab	27,9 \pm 3,1 a	28,1 \pm 2,1 ab
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	30,6 \pm 2,1 b	36,5 \pm 6,1 c	29,8 \pm 2,8 b	29,2 \pm 2,1 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	30,3 \pm 3,1 b	35,7 \pm 4,1 c	29,5 \pm 2,3 b	29,0 \pm 2,1 b
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	29,17	31,11	28,51	28,13
Teste F	35,57**	49,58**	13,95**	10,54**
CV (%)	7,72	11,88	8,78	7,14

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

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

De modo geral, observa-se que as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Norte do estado, são pouco afetadas pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1Ab + CryF), enquanto que, para a população oriunda da região norte é pouco afetada pelo híbrido que expressa a proteína (Cry1F) de forma isolada.

Provavelmente o baixo efeito destas proteínas na biologia de *S. frugiperda* está relacionado ao uso inadequado destas tecnologias nestas regiões. No Brasil plantas de milho que expressam as proteínas inseticidas como Cry1Ab e Cry1F estão liberadas comercialmente desde o ano de 2007 e 2008 respectivamente, enquanto que plantas que expressam ambas as proteínas, foram liberadas comercialmente a partir de 2011 (CTNBio, 2016).

Sendo assim, dentre os eventos liberados para plantas de milho, são estas às proteínas com maior tempo de exposição no campo. A utilização de forma constante destes híbridos ao longo dos anos, e sem a adoção de medidas de manejo da resistência, como por exemplo o plantio da área de refúgio com plantas convencionais, impacta em maior pressão de seleção, acarretando a perda de eficiência destas plantas sobre insetos-praga.

Observou-se em todas as regiões, que dentre todos os híbridos utilizados, os híbridos que expressam as proteínas inseticidas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) prolongaram o período de desenvolvimento de *S. frugiperda*. No entanto, mesmo com este efeito, as lagartas conseguiram se desenvolver, empupar e chegar na fase adulta para copular e produzir mais ovos e novas lagartas.

Carrieri e Tabashnik (2001) citam que essa desvantagem sofrida por insetos resistentes ao Bt em plantas Bt em relação a plantas não Bt é chamada de resistência incompleta. Estes efeitos adversos, podem ser provocados por elevadas concentrações de toxinas expressa pelas plantas (Tabashnik e Carrieri, 2004).

Em relação à longevidade dos adultos, foi verificado a longevidade de mariposas fêmeas, foi constatado diferenças significativas proporcionadas pelas proteínas Bt nas quatro populações (Tabela 10).

Para as populações oriundas das regiões Médio do Paranapanema, Centro Norte e Norte do estado, foi observado que fêmeas que se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram em média menor longevidade. Para a população oriunda da região Noroeste contatou-se menor duração na longevidade em fêmeas que se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) (Tabela 10).

Fernandes (2003) constatou resultados semelhantes aos obtidos no presente experimento, em relação a longevidade de machos e fêmeas de *S. frugiperda* durante as duas primeiras gerações quando estas foram alimentadas durante a fase larval por folhas de híbrido de milho que expressa a proteína inseticida Cry1Ac.

Tabela 10. Longevidade (dias) \pm Desvio Padrão de mariposas fêmeas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranaíba	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	11,9 \pm 1,9 a	11,9 \pm 2,8 ab	12,0 \pm 2,4 a	11,5 \pm 1,9 a
Cry1Ab + Cry1F	12,2 \pm 3,9 a	13,7 \pm 4,2 a	11,1 \pm 3,4 ab	9,9 \pm 2,9 ab
Cry1F	11,5 \pm 3,5 a	11,5 \pm 3,9 ab	11,3 \pm 3,2 ab	11,6 \pm 2,9 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	9,1 \pm 2,3 b	9,1 \pm 4,6 b	11,5 \pm 1,5 ab	9,1 \pm 2,4 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	11,1 \pm 3,1 ab	12,7 \pm 3,1 a	8,9 \pm 2,9 b	11,1 \pm 2,9 ab
Cry1Ab + VIP3Aa20	-	-	-	-
Média Geral	11,34	12,04	11,20	10,91
Teste F	4,56**	4,07**	4,31**	4,14**
CV (%)	27,10	29,74	24,69	23,80

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

** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Já ao observarmos a longevidade de mariposas machos de *S. frugiperda*, constatou-se que não houve diferenças significativas influenciadas pelas proteínas Bt expressas pelos híbridos, em nenhuma das quatro populações, sendo que o período médio de longevidade de machos, variou de 8,5 a 11,6 dias (Tabela 11).

Viana (2014) observou resultados semelhantes ao avaliar a longevidade de adultos de *C. includens* alimentados durante a fase larval com cultivares Bt de algodoeiro, no entanto essa constatação se deu para mariposas de ambos os sexos não quando os insetos se alimentaram durante a fase larval por folhas de algodoeiro que expressam a proteína Cry1Ac ou por plantas convencionais.

Tabela 11. Longevidade (dias) \pm Desvio Padrão de mariposas macho de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	11,0 \pm 1,7 a	10,9 \pm 1,8 a	10,5 \pm 1,5 a	10,98 \pm 2,0 a
Cry1Ab + Cry1F	10,0 \pm 2,5 a	11,6 \pm 3,6 a	10,1 \pm 3,3 a	10,14 \pm 3,5 a
Cry1F	10,7 \pm 3,2 a	11,7 \pm 4,2 a	10,5 \pm 2,5 a	10,94 \pm 3,0 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	9,2 \pm 2,7 a	9,4 \pm 3,7 a	8,6 \pm 1,3 a	9,73 \pm 3,3 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2	10,6 \pm 3,8 a	9,9 \pm 2,9 a	10,5 \pm 1,9 a	10,51 \pm 2,8 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-
Média Geral	10,42	10,87	10,22	10,55
Teste F	2,16 ^{ns}	2,28 ^{ns}	1,78 ^{ns}	1,03 ^{ns}
CV (%)	27,30	30,26	21,28	26,47

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

^{ns} Não significativo

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Considerando o efeito dos tratamentos sobre a razão sexual de *S. frugiperda*, constatou-se que as lagartas das quatro populações, ao se alimentarem do híbrido de milho convencional apresentaram razão sexual próximas de 0,50, ou seja, uma fêmea para cada macho (Tabela 12). Para as populações do Médio Paranapanema e do Norte do Estado, verificou-se que ao se alimentar dos híbridos de milho Bt que expressam as diferentes proteínas inseticidas, os insetos apresentaram razão sexual próximas de 0,50.

Estes resultados corroboram aos constatados por Giles et al. (2000), ao estudar os efeitos de grãos de milho geneticamente modificado expressando as proteínas Cry1Ab, Cry1Ac e Cry9C na biologia de *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae). Fernandes (2003) ao avaliar o efeito do milho geneticamente modificado expressando a proteína Cry1AC em *S. frugiperda* também encontraram resultados semelhantes.

Giolo et al. (2001) ao avaliarem os parâmetros biológicos de *S. frugiperda* oriundas de diversas localidades e de diferentes hospedeiros, constataram que a razão sexual variou entre 0,41 e 0,52, resultados semelhantes aos observados para ambas as localidades no presente experimento.

Já para as populações oriundas das outras duas regiões do estado, observou-se razão sexual de 0,38 (Centro Norte) e 0,37 (Noroeste) quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelos híbridos que expressam as proteínas inseticidas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) e (Cry1F), respectivamente (Tabela 12). Estes resultados demonstram que as proteínas expressas por estes híbridos, podem ter afetado de forma indireta a razão sexual de *S. frugiperda* proporcionando a sobrevivência de um maior número de machos. Resultados diferentes foram observados por Viana (2014) ao avaliar o efeito de cultivares transgênicas de algodoeiro sobre *C. includens*. Naquela ocasião foi constatada razão sexual de 0,61, ou seja, maior número de fêmeas sobreviventes, quando os insetos se alimentaram durante a fase larval com folhas de cultivar de algodoeiro que expressam a proteína inseticida Cry1Ac.

Tabela 12. Razão sexual de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranaíba	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	0,52	0,52	0,51	0,53
Cry1Ab + Cry1F	0,45	0,49	0,58	0,48
Cry1F	0,45	0,44	0,37	0,44
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	0,48	0,38	0,56	0,43
Cry1A.105 + Cry2Ab2	0,48	0,52	0,59	0,53
Cry1Ab + VIP3Aa20	- ²	-	-	-

²Foi observado 100% de mortalidade das lagartas logo no 1^o instar.

Com relação ao efeito dos diferentes híbridos, no período de pré-oviposição de fêmeas de *S. frugiperda*, para as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Centro Norte do estado, não foram observadas diferenças significativas influenciadas pelas proteínas expressas pelos diferentes híbridos, pois os períodos de pré-oviposição observados variaram de 2,9 a 5,0 dias (Tabela 13). Santos et al. (2004) ao avaliar a fertilidade e longevidade de *S. frugiperda* em diferentes genótipos de milho, constaram período de pré-oviposição que variou de 3,94 a 4,78 dias em condições de temperatura de (25+1°C; 10%UR) período estes próximos aos observados no presente experimento.

Já para as populações oriundas das regiões Noroeste e Norte do estado, observou-se diferenças significativas para o período de pré-oviposição (Tabela 13). Para população oriunda da região Noroeste do estado, insetos que se alimentaram durante a fase larval com o híbrido que expressa as proteínas Cry1Ab + Cry1F apresentaram menor período de pré-oviposição com média de 4,2 dias. Já insetos que se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram menor média de duração do período de pré-oviposição, com média de apenas 2,6 dias (Tabela 13).

Para a população oriunda da região Norte do estado, constatou-se maior média de duração do período de pré-oviposição, quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido de milho que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e menor média de duração quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido convencional e pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) com média de duração de 3,6 e 3,5 dias, respectivamente (Tabela 13).

Fernandes (2003) constatou resultados semelhantes aos obtidos no presente experimento, para as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Centro Norte do estado, neste caso não houve diferenças significativas entre os dados de fêmeas, cujas lagartas se alimentaram de híbridos convencional e transgênicos. Já Viana (2014) ao avaliar o período de pré-oviposição de fêmeas de *C. includens* alimentada durante a fase larval em cultivares convencionais e transgênicas de algodoeiro, constatou menor período de pré-oviposição em insetos alimentados com folhas da cultivar convencional, resultados estes que corroboram os constatados para a população oriunda do Norte do estado.

Tabela 13. Período de Pré-Oviposição (dias) \pm Desvio Padrão de mariposas fêmeas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	3,2 \pm 1,0 a	3,9 \pm 0,7 a	3,5 \pm 0,5 ab	3,6 \pm 1,1 b
Cry1Ab + Cry1F	2,9 \pm 0,6 a	4,9 \pm 1,2 a	4,2 \pm 0,4 a	4,4 \pm 1,3 ab
Cry1F	3,2 \pm 0,9 a	5,0 \pm 0,8 a	3,5 \pm 1,4 ab	4,1 \pm 0,8 ab
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	3,6 \pm 1,7 a	3,7 \pm 1,8 a	2,6 \pm 1,0 b	3,5 \pm 0,3 b
Cry1A.105 + Cry2Ab2	3,1 \pm 0,6 a	4,0 \pm 1,6 a	4,6 \pm 1,2 a	4,8 \pm 0,5 a
Cry1Ab + VIP3Aa20	-	-	-	-
Média Geral	3,2	4,3	3,7	4,1
Teste F	0,59 ^{ns}	2,16 ^{ns}	6,38 ^{**}	3,54 [*]
CV (%)	32,74	30,20	26,06	22,46

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

^{ns} Não significativo; ^{*} Significativo a 5%; ^{**} Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Em relação ao efeito dos diferentes tratamentos no período de oviposição de fêmeas de *S. frugiperda*, observou-se que para as populações oriundas das regiões do Médio Paranapanema e Centro Norte, não foram observadas diferenças significativas proporcionadas pelos diferentes híbridos, sendo que a duração média variou de 4,7 a 5,7 dias (Tabela 14).

Para as populações oriundas das regiões Centro Norte e Norte do estado, foram observadas diferenças significativas quando se utilizou os diferentes híbridos como substrato de alimentação durante a fase larval. Para a população oriunda da região Centro Norte, quando os insetos se alimentaram durante a fase larval com folhas do híbrido convencional e do híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) foi observada maior duração do período de oviposição com médias de duração de 5,2 e 5,0 dias respectivamente. Ao se utilizar como substrato de alimentação o híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) observou-se menor média de duração do período de oviposição com média de 3,2 dias (Tabela 14).

Tabela 14. Período de Oviposição (dias) \pm Desvio Padrão de mariposas fêmeas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferentes híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Paranap.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	5,7 \pm 0,5 a	5,2 \pm 0,6 a	4,9 \pm 0,6 a	5,5 \pm 0,7 a
Cry1Ab + Cry1F	5,3 \pm 0,5 a	4,7 \pm 1,3 ab	5,4 \pm 2,8 a	5,7 \pm 0,5 a
Cry1F	5,2 \pm 1,0 a	4,3 \pm 1,8 ab	5,8 \pm 1,1 a	6,3 \pm 1,6 a
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	4,9 \pm 1,2 a	3,2 \pm 0,8 b	5,0 \pm 2,2 a	4,6 \pm 1,5 ab
Cry1A.105 + Cry2Ab2	4,9 \pm 1,4 a	5,0 \pm 1,4 a	4,7 \pm 0,9 a	3,4 \pm 2,0 b
Cry1Ab + VIP3Aa20	-	-	-	-
Média Geral	5,2	4,5	5,2	5,1
Teste F	1,13 ^{ns}	3,84 ^{**}	0,63 ^{ns}	6,71 ^{**}
CV (%)	18,93	28,51	33,81	27,03

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

^{ns} Não significativo; ^{**} Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar.

Já para a população oriunda da região Norte do estado, observou-se maior média de duração do período de oviposição quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelos híbridos: convencional, que expressam as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) e (Cry1F) de forma isolada com médias de duração de 5,5; 5,7 e 6,3 dias respectivamente. Ao utilizar como substrato alimentar durante a fase larval o híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2) foi observado a menor duração do período de oviposição com média de 3,4 dias (Tabela 14).

Fernandes (2003) ao avaliar o período de oviposição de fêmeas de *S. frugiperda* constatou diferenças significativas somente na primeira geração (F1) ao comparar insetos alimentados durante a fase larval com híbridos convencional e que expressam a proteína Cry1Ab. Na ocasião o autor atribuiu que essa diferença provavelmente ocorreu devido a fatores ambientais ou genéticos e não propriamente devido a proteína Cry1Ab expressa pela planta.

No presente experimento, nota-se que os menores valores encontrados para o período de oviposição são de 3,2 dias proporcionado pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) e para a população oriunda da região Centro Norte foi de 3,4 dias no híbrido que expressa (Cry1A.105 + Cry2Ab2). Para a população oriunda da região Norte, provavelmente essa menor duração do período

de oviposição foi influenciada pelas proteínas presentes nestes híbridos, uma vez que se observou efeitos adversos causados por estas proteínas em outros parâmetros avaliados no presente experimento.

Ao considerar os dados do número médio de posturas/fêmea de *S. frugiperda*, constatou-se diferenças significativas influenciadas pelos híbridos nas populações oriundas das quatro regiões (Tabela 15). Para a população oriunda da região do Médio Paranapanema, constatou-se maior número médio de posturas/fêmea quando os insetos se alimentaram durante a fase larval pelo híbrido convencional e pelo híbrido que expressa as proteínas (Cry1Ab + Cry1F) com médias de 5,5 e 6,2 posturas/fêmea, respectivamente (Tabela 15).

Tabela 15. Número médio \pm Desvio Padrão de postura por fêmeas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de quatro regiões do estado de São Paulo, alimentadas com folhas de diferente híbridos de milho. Primavera do Leste, MT 2016.

Híbridos	M. Parana.	Centro Norte	Noroeste	Norte
Convencional	5,5 \pm 1,5 a	4,5 \pm 1,6 a	4,8 \pm 0,8 a	5,1 \pm 1,0 ab
Cry1Ab + Cry1F	6,2 \pm 0,9 a	3,5 \pm 1,1 ab	2,4 \pm 1,3 c	5,7 \pm 1,3 a
Cry1F	4,7 \pm 0,5 ab	3,3 \pm 0,8 ab	4,2 \pm 1,2 ab	5,2 \pm 1,0 ab
Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F	3,6 \pm 1,3 b	2,3 \pm 0,5 b	2,5 \pm 1,1 c	4,2 \pm 1,5 bc
Cry1A.105 + Cry2Ab2	3,8 \pm 1,8 b	2,6 \pm 1,1 b	2,9 \pm 0,7 bc	3,6 \pm 0,8 c
Cry1Ab + VIP3Aa20	-	-	-	-
Média Geral	4,76	3,24	3,36	4,76
Teste F	7,72**	6,44**	10,68**	5,48**
CV (%)	26,97	33,05	31,05	23,97

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

^{ns} Não significativo; * Significativo a 5%; ** Significativo a 1% de probabilidade.

² Os dados não foram submetidos à análise estatística devido à 100% de mortalidade no 1º instar

Para as populações oriundas das Regiões Centro Norte e Noroeste do estado, observou-se maior número médio de posturas/fêmea quando os insetos se alimentaram durante a fase larval no híbrido convencional com média de 4,5 e 4,8 posturas/fêmea, respectivamente. Já para a população oriunda da Região Norte do estado, observou-se maior número médio de posturas/fêmea quando os insetos se alimentaram durante a fase larval no híbrido que expressa as proteínas inseticidas (Cry1Ab + Cry1F) com média de 5,7 posturas/fêmea (Tabela 15).

Para as populações oriundas das quatro localidades observou-se que os insetos que passaram a fase larval alimentando-se dos híbridos que expressam as proteínas (Cry1A.105, Cry2Ab2) e (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F) apresentaram as menores médias de postura/fêmea. Provavelmente esse menor número de posturas está relacionado aos efeitos exercidos por estas proteínas durante o desenvolvimento larval do inseto, onde observou-se na maioria dos casos que ao se alimentarem dos híbridos que expressam estas proteínas, os insetos apresentaram, significativamente menor peso médio durante a fase larval e de pupas, menor viabilidade larval e maior duração do período de desenvolvimento.

4. Conclusões

A proteína VIP3Aa20 expressa pelo híbrido Viptera3, causa altos níveis de mortalidade de populações de *S. frugiperda* em todas as regiões do estado de São Paulo;

As proteínas Cry1A.105 +Cry2Ab2 expressas pelos híbridos VTPro e PowerCore apresentam supressão moderada da praga e afetam os parâmetros biológicos proporcionando aos insetos maior duração do ciclo de desenvolvimento; e,

As proteínas Cry1Ab e Cry1F expressas de forma isolada ou de forma conjunta não apresentam efeitos significativos nos parâmetros biológicos de populações de *S. frugiperda* presentes no estado de São Paulo, sendo considerada essas populações resistentes a essas proteínas.

5. Referências

- ALI, M. I.; LUTTRELL, R. G.; YOUNG, S. I. Susceptibilities of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Cry1Ac insecticidal protein. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, p. 164-175, 2006.
- ARAUJO, O.G.; MENDES, S.M.; ROSA, A.P.S.A.; MARUCCI, R.C.; SANTOS, C.A.; DIAS, A.S.; CARVALHO, S.S.S. **Aspectos biológicos de populações de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e arroz**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. 23 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 101).
- BARROS, E.M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, p. 996-1001. 2010.
- BAVARESCO, A.; GARCIA, M.S.; GRÜTZMACHER, A.D.; RINGENBERG, R.; FORESTI, J. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.33, n.2, p.155-161, 2004.
- BORTOLOTTI, O.C.; ADENEY, F.B.; QUIEROZ, A.P.; SILVA, G.V. Larval development of *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* fed on fresh ear of field corn expressing the Bt proteins (Cry1F and Cry1F+Cry1A.105+Cry2Ab2). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.46, n.11, p.1898-1901, 2016.
- BUNTIN, G.D.; LEE, D.; WILSON, D.M.; McPHERSON, R.M.; Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.84, n.1, p. 37-42, 2001.
- BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of Lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7p.
- CARRIÈRE, Y.; TABASHNIK, B.E. Reversing insect adaptation to transgenic insecticidal plants. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 268, p.1475-1480, 2001.
- CÉLERES. **Os Benefícios Econômicos da Biotecnologia Agrícola no Brasil: 1996/97 a 2012/13**. 2013. Disponível em: <http://celeres.com.br/wordpress/wp-content/uploads/2014/01/PressRelease2013_Economico.pdf> Acesso em: 15 set. 2016.
- CTNBio. Comissão técnica nacional de biossegurança. **Tabela resumo – Plantas aprovadas, 2016**. Disponível em <http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display> Acesso em: 10 set 2016.

DOWD, P.F. Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.93, n.6, p.1669-1679, 2000.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht v.114, p.161-169, 2005.

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

FERNANDES, O.D. **Efeito do Milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e no parasitoide de ovos *Trichogramma* spp.** 2003. 164p. Tese (doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2003.

FUNICHELLO, M. COSTA, L.L.; AGUIRRE-GIL, O.J.; BUSOLI, A.C. Aspectos biológicos de *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) alimentadas con pulgones criados en algodón transgênico Bollgard I®. **Revista Colombiana de Entomologia**, Santafe de Bogota, v. 38, n.1, p. 156-161, 2012.

FUNICHELLO, M.; GRIGOLLI, J.F.J.; SOUZA, B.H.S. de; 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**, Lagos, v.8, p.5424-5428, 2013.

GILES, K.L.; HELLMICH, R.L.; IVERSON, C.T.; LEWIS, L.C. Effect of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize grain on *B. thuringiensis*-susceptible *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.93, n.3, p.1011-1016, 2000.

GIOLO, F.P.; GRÜTZMANCHER, A.D.; GARCIA, M.S.; BUSATO, G.R. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEP.:NOCTUIDAE) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. **Revista Brasileira de Agrobiologia**, Pelotas, v.8, n.3, p.219-224, 2002.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.69, n.4, p.488-497, 1976.

HUANG, J.; ROZZELE, S.; PRAY, C.; WANG, Q. Plant biotechnology in China. **Science**, Washington, v.295, p.674-677, 2002.

LOURENÇÃO, A.L.F.; FERNANDES, M.G. Avaliação do milho *Bt* Cry1A(b) e Cry1F no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de campo. **Científica**, Jaboticabal, v.41, p.164-188, 2013.

LYNCH, R.E.; WISEMAN, B.R.; PLAINSTED, D.; WARNIK, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm. **Journal Economic Entomology**, Lanham, v.92, n.1, p. 246-252, 1999.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011.

MENDES, S.M.; WAQUIL, J. M. **Uso do milho Bt no manejo integrado de lepidópteros-praga: recomendações de uso**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 170).

MEYERS, H.B.; JOHNSON, D.R.; SINGER, T.L.; PAGE, L.M. Survival of *Helicoverpa zea* Boddie on Bollgard[®] cotton. In: BELTWISE COTTON CONFERENCE, 2., Memphis, 1977. **Proceedings**. Memphis: National Cotton Council, 1997, p. 1269-1271.

MICHELOTTO, M.D.; CROSARIOL NETTO, J.; FREITAS, R.S.; DUARTE, A.P.; BUSOLI, A. C. Milho transgênico (*Bt*): efeito sobre pragas-alvo e não-alvo. **Nucleus**, Ituverava, Edição Especial, p. 67-82, 2013.

MICHELOTTO, M.D.; FINOTO, E.L.; MARTINS, A.L.M.; DUARTE, A. P. Interação entre transgênicos *Bt* e inseticidas no controle de pragas-chave em híbridos de milho safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.71-79, 2011.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; ORDÚZ, S.; JARAMILLO, G.; BENINTENDE, G.; COZZI, J.; REAL, M.D.; MARTINEZ-RAMIREZ, A.; RAUSELL, C.; CERÓN, J.; IBARRA, J.E.; DEL RINCON-CASTRO, M.C.; ESPINOZA, A. M.; MEZA-BASSO, L.; CABRERA, L.; SÁNCHEZ, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Genetic variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Latin America is associated with variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* cry toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 11, p. 7029-7035. 2006.

MORAES, A.R.A.; LOURENÇÃO, A.L.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**. Campinas, v.74, n.1, p.50-57, 2015.

MUNKVOLD, G.P.; HELLMICH, R.L.; RICE, L.G. Comparison of fumonisin concentration in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. **Plant Disease**, Saint Paul, v.83, p.130-138, 1999.

PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimento por insetos. In: PANIZZU, A. R.; PARRA, J.R.P. (Ed). **Ecologia nutricional e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p.9-65.

PERTELINI, E.; OLIVEIRA, N.C.; AZEVEDO, A.P. Desenvolvimento da lagarta-do-cartucho em híbridos de milho com diferentes tecnologias Bt. **Campo Digital**, Campo Mourão, v.9, n.2, p.58-65, 2014.

ROSA, A.P.A.; TECHA, C.O.; ALVES, A.C.; GARCIA, L.; GONÇALVES, V.P. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) em linhagens de milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.1, p. 39-45, 2012.

SANTOS, L.M.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G.; EFROM, C.F.S. Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.345-350, 2004.

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

STORER, N. P.; THOMPSON, G. D.; HEAD, G. P. Application of pyramided traits against Lepidoptera in insect resistance management for Bt crops. **GM Crops Food**, v. 3, n. 3. p. 154- 162. 2012.

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.

TANG, J.D.; COLLINS, H.L.; ROUSH, R.T.; METZ, T.D.; EARLE, E.D.; SHELTON, A.M. Survival, weight gain, and oviposition of resistant and susceptible *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) on broccoli expressing Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis*. **Entomological Society of America**, Washington, v.92, p. 47-55, 1999.

VIANA, D.L. **Efeitos de cultivares de algodoeiro que expressam as proteínas Cry1Ac e Cry1F nos parâmetros biológicos de *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2014. 42p. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2014.

VIANA, D.L.; CROSARIOL NETTO, J.; AGUIRRE-GIL, O.J.; BUSOLI, A.C. Parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira em cultivares de algodoeiro com as proteínas Cry1Ac e Cry1F. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.7, p. 569-572, 2014.

WAQUIL, J.M.W; PATRICK, M.D.; CARVALHO, R.A.; WLADECIR, S.O.; BERGER, G.U.; HEAD, G.P.; MARTINELLI, S. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho

com o evento By piramidado Cry1A.105 e Cry2Ab2. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.12, p.1529-1537. 2013.

WILLIAMS, W.P.; SAGERS, J.B.; HANTEN, J.A.; DAVIS, F.M.; BUCLEY, P.M. Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. **Crop Science**, Mason, v.37, p. 957-962, 1997.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente o cenário agrícola nacional conta com os chamados sistemas de produção, nas quais os cultivos ocorrem de forma constante e sucessiva durante um mesmo ano agrícola. No entanto, isso tem propiciado problemas cada vez mais frequentes relacionados a alguns grupos de pragas, dentre eles os lepidópteros.

Espécies como *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa zea* e mais atualmente *H. armigera* vem crescendo de importância neste cenário, causando prejuízos consideráveis principalmente em culturas como a soja, o milho e o algodão. Com isso, o uso intensivo de inseticidas e a adoção de cultivos transgênicos (Bt) se torna cada vez mais frequente no Brasil e no mundo, acarretando ganhos em produtividade, porém também surgindo vários problemas, relatados através de diversos trabalhos científicos.

Um dos grandes problemas observados no Brasil e no mundo é a seleção de populações de pragas resistentes aos cultivos geneticamente modificados, devido a utilização de eventos que expressam as mesmas proteínas inseticidas durante vários anos nas áreas de cultivo e a não realização de medidas de Manejo da Resistência em Insetos (MRI) como por exemplo a adoção de áreas de refúgio, implicando assim na aceleração do processo de seleção.

Desta forma ocorre o surgimento de populações resistentes às proteínas Cry ou Vip expressas pela maioria dos híbridos comerciais, na qual se faz necessário a utilização de medidas conjuntas de controle, como o uso de inseticidas, acarretando no aumento do custo de produção. Nesse sentido trabalhos que possam demonstrar a real eficiência de cultivos transgênicos na supressão de lepidópteros-praga em regiões específicas são necessários, e devem ser realizados de forma frequente, no intuito de demonstrar ao produtor quais medidas possam ser tomadas para se obter maior produtividade e menor custo de produção.

O presente trabalho, demonstra que a maioria dos eventos de milho Bt liberados comercialmente estão apresentando sérios danos ocasionados por populações por *S. frugiperda* em regiões tradicionais de cultivo de milho no estado de São Paulo, sendo as tecnologias mais antigas que expressam as proteínas Cry1Ab e Cry1F de forma isolada ou combinadas, as que apresentam as maiores injúrias. No

entanto, os eventos mais novos também estão apresentando níveis de injúrias consideráveis. Desta forma não se deve abrir mão de amostragens e da realização de Programas de Manejo Integrado de Pragas.

Outro aspecto observado neste trabalho, é que as populações regionais de *S. frugiperda* apresentam respostas diferentes às proteínas inseticidas no estado de São Paulo. No entanto e de modo geral, observou-se que as proteínas Cry 1Ab e Cry1F expressas pelas plantas estão causando poucos efeitos sobre as populações de lagartas de *S. frugiperda*, principalmente nas regiões Norte e do Médio Paranapanema. Sendo assim medidas de manejo da resistência devem ser adotadas, com intuito de prolongar a vida útil destas tecnologias, para que a agricultura não volte a depender exclusivamente do uso do controle químico de pragas na cultura do milho no estado de São Paulo.