RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 09/05/2020.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTRATÉGIA DE MISTURA DE SEMENTES EM EVENTOS DE MILHO BT "PIRAMIDADO" A *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Luciano Nogueira

Engenheiro Agrônomo

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTRATÉGIA DE MISTURA DE SEMENTES EM EVENTOS DE MILHO BT "PIRAMIDADO" A *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Luciano Nogueira

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior

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).

2018

N778e

Nogueira, Luciano
Estratégia de mistura de sementes em eventos de milho Bt "piramidado" a Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) / Luciano Nogueira. -- Jaboticabal, 2018
93 p. : il., tabs. + 1 CD-ROM

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior

1. Lagarta-do-cartucho. 2. Manejo de resistência. 3. Refúgio na sacaria. 4. Movimentação larval. 5. Piramidação de genes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTRATÉGIA DE MISTURA DE SEMENTES EM EVENTOS DE MILHO BT "PIRAMIDADO" A *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPDOPTERA: NOCTUIDAE)

AUTOR: LUCIANO NOGUEIRA
ORIENTADOR: ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR

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

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

Profa. Dra. MARINA ROBLES ANGELINI
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro / Uberlândia/MG

Profa. Dra. NILZA MARIA MARTINELLI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisador Dr. JOSÉ ROBERTO SCARPELLINI
IAC / Ribeirão Preto/SP

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 09 de novembro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUCIANO NOGUEIRA – Natural de Ipameri-GO, nascido em 07 de julho de 1983, filho de Artur Nogueira e Ilma Vaz Nogueira, é Engenheiro Agronômo graduado pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Urutaí, GO, no ano de 2013. Durante o curso de graduação desenvolveu atividades de pesquisa na área de concentração em Entomologia Agrícola, subárea Resistência de Plantas a Insetos (RPI), sendo bolsista de iniciação científica (PIBIC/IF Goiano), sob a orientação do Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus. Em agosto de 2013, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, SP, atuando na linha de pesquisa RPI, sob a orientação do Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior. Durante o curso de mestrado foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Obteve o título de mestre em fevereiro de 2015. Em março do mesmo ano, iniciou o curso de Doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela mesma instituição, atuação e orientação, com bolsa concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Atualmente é docente da Universidade Estadual de Goiás – Câmpus Ipameri, GO, atuando nos Cursos de Agronomia e Engenharia Florestal, ministrando as disciplinas de Entomologia Básica e Aplicada.

E-mail: lucianonogueiraagro@gmail.com

“O que quer que você seja, seja bom nisso. ”

[Abraham Lincoln].

DEDICO...

Aos meus pais ***Artur Nogueira*** *e* ***Ilma Vaz Nogueira,***
á quem devo muito do que aprendi em minha vida.
Pelo apoio incondicional e palavras de ânimo e coragem nos momentos mais difíceis.

Àquela cuja presença sempre será lembrada e
a ausência sempre sentida:
Minha avó ***Divina Dias Tosta***†*,*
sua garra e seu exemplo são continuidade
na concretização do meu ideal.

OFEREÇO...

As minhas irmãs ***Fernanda Nogueira*** *e* ***Juliana Nogueira****,*
pelo incentivo e apoio em minhas decisões.
Aos meus sobrinhos, pelos olhares cheios de amor, que me fortalece
nos momentos mais difíceis.

HOMENAGEIO...

"Os que confiam no Senhor
serão como o monte de Sião, que
não se abala, mas permanece
para sempre. "
Salmos 125: 1.

AGRADECIMETOS

A Deus, por tudo que a vida me tem proporcionado.

Ao orientador, Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, pela valiosa orientação, ensinamentos, confiança, oportunidade e pela amizade.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal (UNESP/FCAV), por toda estrutura necessária para a condução da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado durante o desenvolvimento desta pesquisa (Processo: 1499563).

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) (PPG-EA), pela oportunidade de crescimento pessoal, profissional e realização do curso.

Aos docentes do PPG-EA, pelos ensinamentos e valiosos conhecimentos transmitidos ao longo do curso.

Aos Professores, Dra. Nilza Maria Martinelli e Dr. Ricardo Antonio Polanczyk pela participação e valiosa colaboração no meu Exame Geral de Qualificação.

Ao Dr. Anderson Rodrigo da Silva do IF Goiano - Campus Urutaí-GO, pelas valiosas contribuições na análise estatística dos dados.

As empresas, Syngenta e Monsanto do Brasil Ltda. pela cessão das sementes utilizadas nos experimentos.

Ao Técnico Agrícola Marcelo Scatolin e aos funcionários da Fazenda de Ensino Pesquisa e Extensão (FEPE) por todo auxílio e suporte nas atividades de campo e pelo companheirismo.

Aos colegas que estão ou que fizeram parte do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos (LARPI), Bruno Henrique Sardinha de Souza, Eduardo Neves Costa, Mirella Marconato Di Bello, Wellington Ivo Eduardo, Renato Franco de Oliveira Moraes, Marcelo Mueller de Freitas, Paulo Henrique Soares Barcelos, Stéfane Carolina da Silva Quista e Carlos Alessandro de Freitas pela amizade e auxílio em diversas atividades.

Aos estagiários que passaram pelo LARPI, Maila Simogaki, Cinthia Luzia Teixeira Silva, Thaísa Manduca de Andrade, João Marcos Delfino Lopes, Tony de Lima Moura e Gabriel Galvão Lança Silvio, por todo o auxílio no desenvolvimento do trabalho.

Ao amigo, Cirano Cruz Melville pelo convívio agradável, companheirismo e pela inestimável amizade.

Ao orientador de graduação Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, pela amizade, oportunidade, ensinamentos e incentivo quando iniciei os trabalhos em pesquisa voltados para a área de Entomologia Agrícola.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade em especial: Lígia Dias Tostes Fiorezzi, Cibele da Silva Anton e José Altamiro de Souza, pela amizade e atenção sempre dispensada.

Aos amigos de trabalho da Universidade Estadual de Goiás – Câmpus Ipameri - GO pela amizade e convívio.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”.

Muito Obrigado!!!

SUMÁRIO

Página

RESUMO..... iv

ABSTRACT..... v

LISTA DE TABELAS..... vi

LISTA DE FIGURAS..... viii

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS..... 1

1. Introdução..... 2

2. Revisão de literatura..... 4

2.1. Aspectos bioecológicos de *Spodoptera frugiperda*..... 4

2.2. Milho Bt no manejo de *Spodoptera frugiperda*..... 6

2.3. Resistência de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt..... 8

2.4. Estratégias de manejo de resistência a *Spodoptera frugiperda* em milho Bt..... 9

3. Referências..... 14

CAPÍTULO 2 - SOBREVIVÊNCIA, DESENVOLVIMENTO E MOBILIDADE LARVAL DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO BT PIRAMIDADO E NÃO-BT..... 22

RESUMO..... 22

ABSTRACT..... 23

1. Introdução..... 24

2. Material e métodos..... 26

2.1. Condições experimentais..... 26

2.2. População de *Spodoptera frugiperda*..... 26

2.3. Milho Bt e não-Bt..... 27

2.4. Sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt..... 27

2.4.1. Semeadura e manutenção das plantas..... 27

2.4.2. Biologia de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt..... 28

2.5. Mobilidade e injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt..... 29

2.5.1. Esquemas de plantio..... 29

2.5.2. Semeadura e condução das plantas..... 30

2.5.3. Infestação artificial e avaliação da mobilidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda*..... 30

2.6. Análise estatística..... 31

3. Resultados..... 33

3.1. Sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt piramidado e não-Bt..... 33

3.2. Mobilidade e injúrias de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt piramidado e não-Bt..... 36

4. Discussão..... 51

5. Conclusões..... 56

6. Referências..... 57

CAPÍTULO 3 – MISTURA DE SEMENTES DE MILHO BT "PIRAMIDADO" NO MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)..... 64

RESUMO..... 64

ABSTRACT..... 65

1. Introdução..... 66

2. Material e métodos..... 68

2.1. Local do experimento..... 68

2.2. Milho Bt e não-Bt..... 68

2.3. Semeadura e condução do experimento..... 69

2.4. Delineamento experimental..... 70

2.5. Amostragem de campo..... 70

2.6. Análise estatística..... 71

3. Resultados..... 72

3.1. Eficácia em campo das proteínas inseticidas em mistura de sementes. 73

3.2. Eficácia a campo dos eventos de milho Bt piramidado..... 77

3.3. Rendimento de grãos..... 78

4. Discussão..... 79

5. Conclusões..... 83

6. Referências..... 84

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 88

Referências..... 90

APÊNDICES..... 91

ESTRATÉGIA DE MISTURA DE SEMENTES EM EVENTOS DE MILHO BT "PIRAMIDADO" A *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – Os eventos de milho Bt que expressam as proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner são importantes ferramentas para o manejo da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Um dos problemas associados ao cultivo de plantas Bt, tem sido a ausência de não-conformidade dos refúgios e eventos que não apresentam alta dose da proteína inseticida. A estratégia de mistura de sementes tem sido utilizada como uma ferramenta para tentar reduzir a baixa adoção de áreas de refúgio. No entanto, existe uma grande preocupação com relação a sua eficácia em retardar a evolução da resistência, principalmente em relação a movimentação e sobrevivência da praga. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar: 1) em condições de laboratório, a sobrevivência e o desenvolvimento de lagartas de *S. frugiperda* expostas ao longo da fase larval em milho Bt piramidado e não-Bt; 2) em casa de vegetação, a mobilidade das lagartas em quatro esquemas de plantio e, 3) em campo, avaliar a estratégia de mistura de sementes, em quatro proporções de mistura de sementes (2,5; 5,0; 7,5; e 10,0%) (Bt: não-Bt), nas safras (verão e inverno) em dois anos agrícolas em 2016 e 2017. Para a condução dos experimentos foram utilizadas as tecnologias de milho Agrisure Viptera 3110 e YieldGard VT Pro 3 e suas respectivas linhas isogências (não-Bt). Na avaliação de sobrevivência e desenvolvimento, as lagartas de *S. frugiperda* expostas no milho Agrisure Viptera 3110 não completaram o desenvolvimento. As lagartas expostas ao longo do desenvolvimento no milho YieldGard VT Pro 3 sobreviveram, demonstrando que as proteínas Cry não controlam eficientemente as lagartas nos estágios finais de desenvolvimento. As lagartas de *S. frugiperda* foram capazes de se dispersar por até 1,20 m da planta de infestação nos esquemas de plantio com plantas não-Bt, tanto na linha de infestação, quanto nas linhas adjacentes. Quando dispostas no plantio com apenas plantas Bt, as lagartas foram eficientemente controladas pelos eventos de milho Bt. Os resultados de campo evidenciaram que a estratégia de mistura de sementes com Agrisure Viptera 3110 controla eficientemente as lagartas. No milho Yeldgard VT Pro 3 foi verificado alta incidência de plantas com injúrias causadas por *S. frugiprerda*, principalmente nas safras de inverno. Os resultados de sobrevivência, movimentação e a alta incidência de injúrias nas plantas Bt em campo, com YeldGard VT Pro 3 demonstram que a estratégia de mistura de sementes pode não ser efetiva como uma estratégia de MRI para retardar a evolução da resistência a *S. frugiperda*. Os resultados observados neste estudo fornecem informações importantes em relação a estratégia de mistura de sementes para o manejo de resistência de *S. frugiperda* em áreas de milho Bt.

Palavras-chave: lagarta-do-cartucho, manejo de resistência, refúgio na sacaria, movimentação larval, piramidação de genes

SEED MIXTURE STRATEGY USING "PYRAMIDED" BT MAIZE EVENTS ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT - Maize events expressing *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner proteins are important tools for the management of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (J.E. Smith). One problem associated with the cultivation of Bt plants is the difficulty in complying with refuge regulations by implementing events that do not produce high doses of insecticidal protein. The seed mixture strategy has been used as a tool to try to increase the adoption of refuge areas. However, there is great concern about their effectiveness in slowing the evolution of resistance, especially in relation to movement and pest survival. Thus, the objective of the present study was to evaluate the following: 1) the survival and development of *S. frugiperda* larvae exposed along the larval stage in "pyramided" Bt maize under laboratory conditions, 2), the mobility of larvae in four planting patterns under greenhouse conditions, and 3) the strategy of seed mixture under field conditions, in four Bt proportions (2.5, 5.0, 7.5, and 10.0%) (Bt: non-Bt), for two seasons (summer and winter crop) in 2016 and 2017. Agrisure Viptera 3110 and YieldGard VT Pro 3 maize hybrids and their respective isolines (non-Bt) were used to conduct the experiments. In the evaluation of survival and development, the *S. frugiperda* larvae exposed to Agrisure Viptera 3110 maize did not survive. Some larvae exposed to YieldGard VT Pro 3 throughout their development survived, demonstrating that Cry proteins do not efficiently control the larvae in late stages of development. *S. frugiperda* larvae were dispersed up to 1.20 m from the central plant in the planting patterns with non-Bt plants, both in the infestation line and adjacent lines. In the planting patterns with only Bt plants, fall armyworm larvae were efficiently controlled by the Bt maize hybrids. The field results showed that the seed mixture strategy with Agrisure Viptera 3110 efficiently controls larvae. There were incidences of *S. frugiperda* survival in Yeldgard VT Pro 3, with higher incidences in the winter crops under farm conditions in both years. The results of survival, movement, and high field incidence of injuries in field Bt plants with the Yeldgard VT Pro 3 hybrid demonstrate that the seed mixture strategy may not be effective as an insecticide resistance management (IRM) strategy to delay the evolution of resistance to *S. frugiperda*. The results of this study provide important information regarding the seed mixture strategy for the resistance management of *S. frugiperda*.

Keywords: fall armyworm, resistance management, larval moviment, refuge in the bag, gene pyramiding

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2 – SOBREVIVÊNCIA, DESENVOLVIMENTO E MOBILIDADE LARVAL DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO BT PIRAMIDADO E NÃO-BT

Tabela 1. Porcentagem de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt piramidado com a tecnologia Agrisure Viptera 3110 e não-Bt ao longo do desenvolvimento larval..... 33

Tabela 2. Porcentagem de sobrevivência de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt piramidado com a tecnologia YieldGard VT Pro 3 e não-Bt ao longo do desenvolvimento larval..... 34

Tabela 3. Duração (±EPM) das fases de larva, pupa, larva-adulto, razão sexual e biomassa de pupas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas em milho Bt piramidado com a tecnologia Agrisure Viptera 3110 e não-Bt em simulações de alimentação larval……..... 35

Tabela 4. Duração (±EPM) das fases de larva, pupa, larva-adulto, razão sexual e biomassa de pupas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas em milho Bt piramidado com a tecnologia YieldGard VT Pro 3 e não-Bt em simulações de alimentação larval……..... 36

Tabela 5. Número médio (±EPM) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* nos esquemas de plantio de milho Bt piramidado com as tecnologias Agrisure Viptera 3110 e YieldGard VT Pro 3 e suas respectivas plantas não-Bt em casa de vegetação..... 36

Tabela 6. Número médio (± EPM) de lagartas e notas de injúrias de *Spodoptera frugiperda* aos 3, 9, e 15 dias após a infestação em quatro esquemas de plantio de milho Bt piramidado com a tecnologia Agrisure Viptera 3110 e não-Bt..... 38

Tabela 7. Número médio (± EPM) de lagartas e notas de injúrias de *Spodoptera frugiperda* aos 3, 9, e 15 dias após a infestação em quatro esquemas de plantio de milho Bt piramidado com a tecnologia YieldGard VT Pro 3 e não-Bt (isolinha)..... 41

CAPÍTULO 3 – MISTURA DE SEMENTES DE MILHO BT “PIRAMIDADO” NO MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Tabela 1. Análises de *Deviance* (ANADEV): % de plantas com injúria e % de plantas com nota de injúria ≥ 3 (escala Davis) ocasionadas por *Spodoptera frugiperda* em milho Bt com as tecnologias Yeldgard VT Pro 3 e Agrisure Viptera 3110 em mistura de sementes nas safras de verão (2015/2016 e 2016/2017) e safra de inverno (2016 e 2017)..... 72

Tabela 2. Análise de variância (ANOVA): rendimento de grãos (kg ha^{-1}) em milho Bt com as tecnologias Yeldgard VT Pro 3 e Agrisure Viptera 3110 em mistura de sementes nas safras de verão (2015/2016 e 2016/2017) e safra de inverno (2016 e 2017)..... 72

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 2 - SOBREVIVÊNCIA, DESENVOLVIMENTO E MOBILIDADE LARVAL DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO BT PIRAMIDADO E NÃO-BT

Figura 1. Constituição das parcelas e distribuição das distâncias de movimento das lagartas de *Spodoptera frugiperda* nos esquemas de plantio com milho Bt piramidado e não-Bt..... 29

Figura 2. Médias e Intervalos de 95% de confiança para a proporção de sobrevivência de pupas (A) e emergência de adultos (B) de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt piramidado com a tecnologia YieldGard VT Pro 3 e não-Bt (isolinha) ao longo do desenvolvimento..... 34

Figura 3. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho simulando RIB (planta central não-Bt, circundada com plantas Bt) com a tecnologia Agrisure Viptera 3110. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente..... 45

Figura 4. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho (planta central Bt, circundada com plantas não-Bt) com tecnologia Agrisure Viptera 3110. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação..... 46

Figura 5. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho simulando refúgio estruturado (plantas não-Bt) isolinha da tecnologia Agrisure Viptera 3110. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente..... 47

Figura 6. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho simulando RIB (planta central não-Bt, circundada com plantas Bt) com tecnologia YieldGard VT Pro 3. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente..... 48

Figura 7. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho (planta central Bt, circundada com plantas não-Bt) com tecnologia YieldGard VT Pro 3. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente..... 49

Figura 8. Mapas de infestação e de notas de injúrias de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em esquema de plantio de milho, simulando refúgio estruturado (plantas não-Bt) isolinha da tecnologia YieldGard VT Pro 3. A, B e C, mobilidade das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente; D, E e F, notas de injúrias das lagartas aos 3, 9 e 15 dias após a infestação, respectivamente..... 50

CAPÍTULO 3 – MISTURA DE SEMENTES DE MILHO BT “PIRAMIDADO” NO MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Figura 1. Intervalos de 95% de confiança da porcentagem de plantas de milho com injúrias nas safras de verão: 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B); safras de inverno: 2016 (C) e 2017 (D) em milho Bt piramidado com a tecnologia YeldGard VT Pro 3..... 73

Figura 2. Intervalos de 95% de confiança da porcentagem de plantas de milho com injúrias nas safras de verão: 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B); safras de inverno: 2016 (C) e 2017 (D) em milho Bt piramidado com a tecnologia Agrisure Viptera 3110..... 74

Figura 3. Intervalos de 95% de confiança da porcentagem de plantas com nota de injúria ≥ 3 nas safras de verão: 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B) e safras de inverno: 2016 (C) e 2017 (D) em milho Bt piramidado com a tecnologia YeldGard VT Pro 3..... 76

Figura 4. Intervalos de 95% de confiança da porcentagem de plantas com nota de injúria ≥ 3 nas safras de verão: 2015/2016 (A) e 2016/2017 (B) e safras de inverno: 2016 (C) e 2017 (D) em milho Bt piramidado com a tecnologia Agrisure Viptera 3110..... 77

Figura 5. Médias e Intervalos de 95% de confiança para o rendimento de grãos em milho Bt piramidado com as tecnologias YieldGard VT Pro 3 e Agrisure Viptera 3110..... 78

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

O uso de plantas geneticamente modificadas (GM) expressando proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner que controlam insetos específicos representa um avanço significativo no manejo de pragas em todo o mundo (Erasmus et al., 2016). Dentre os benefícios da adoção das culturas Bt, estão a redução na utilização de inseticidas químicos, o manejo das principais pragas agrícolas e a redução dos riscos para organismos não-alvo (Hutchison et al., 2011; Tabashnik et al., 2013; Klümper e Qaim, 2014; Téllez-Rodriguez et al., 2014). Em todo o mundo, a maior área de cultivo é com Milho (*Zea mays* L.) Bt e no Brasil, é a segunda maior área, com uma taxa de adoção de mais de 95% da área cultivada no país (James, 2017), o que corresponde a mais de 14, 5 milhões de hectares.

A aprovação comercial do milho Bt no Brasil ocorreu em 2007 com eventos que expressavam apenas uma proteína inseticida (CTNbio, 2007). A partír de 2009 foram aprovados eventos em “pirâmide de genes” (expressando duas ou mais proteínas inseticidas) (CTNBio, 2009), como tática para aumentar a eficácia do milho Bt no controle da principal praga do milho, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). A lagarta-do-cartucho é uma praga altamente polífaga e com ocorrência em todo o hemisfério ocidental (Cruz et al., 2012; Nagoshi et al. 2015) e com populações resistente as proteínas Cry1F em Porto rico (Storer et al, 2010), Estados Unidos (Huang e al., 2014) e no Brasil (Farias et al., 2014; Huang et al., 2014; Monnerat et al., 2015), além de Cry1Ab (Omoto et al., 2016).

A evolução da resistência de pragas-alvo tanto a tecnologias Bt, como inseticidas é uma preocupação. As estratégias de manejo de resistência a insetos (MRI) são fundamentais para retardar a evolução da resistência e assegurar a sustentabilidade dos cultivos Bt (Huang et al., 2011). A estratégia de alta dose/refúgio e, eventos piramidados tem sido a mais recomendada.

A estratégia baseia-se em uma planta que expressa uma alta dose de proteínas Bt para matar o maior número possível de indivíduos da praga-alvo, incluindo os heterozigotos (RS) (Onstad et al., 2011). Em uma área próximo ao milho

Bt, deve ser cultivada uma área com milho não-Bt de tamanho predeterminado (10% da área Bt) (IRAC, 2018). A área não-Bt serve como uma fonte de adultos suscetíveis (SS) da praga-alvo que irão se acasalar com os poucos adultos resistentes (RR) que poderão sobreviver na área Bt. A geração suscetível (SS) descendente será controlada pela alta dose da proteína Bt expressa na planta (Onstad et al., 2011; Tabashnik et al., 2013).

Adicionalmente as plantas Bt piramidadas, contêm dois ou mais genes que codificam diferentes proteínas Bt, sendo que cada proteína inseticida da pirâmide apresenta modos de ação únicos e independentes, resultando na elevada mortalidade da praga-alvo (Tabashnik et al., 2013; Tabashnik et al., 2014). No MRI a piramidação de genes pode ser classificada como estratégia de ataque múltiplo pois os insetos resistentes a uma das proteínas da pirâmide serão mortos por outras proteínas (Bates et al., 2005).

A não-conformidade das áreas de refúgio, associados ao uso de eventos que não expressam “alta dose”, foram apontados como os fatores determinantes para o aumento da evolução de resistência de *S. frugiperda* no Brasil (Omoto et al., 2016).

Para tentar reduzir o risco associado a baixa adoção de áreas de refúgio, tem sido sugerida uma estratégia alternativa, comumente referida como mistura de sementes (“*Refuge in the bag*” (RIB) ou “refúgio na sacaria”) (Gould, 1996; 1998; Carroll et al., 2012). Neste caso, um único saco de sementes contém uma proporção predeterminada de sementes de milho não-Bt junto as sementes Bt, eliminando assim, o problema de baixa ou não conformidade aos requisitos de refúgio. Assim, os produtores não precisam assumir a responsabilidade pelo plantio de refúgio estruturado (Gould, 1996; Onstad et al., 2011). Embora os produtos de mistura de sementes sejam muito práticos de um ponto de vista do monitoramento de plantio e conformidade, existe a preocupação com relação a sua eficácia em retardar a evolução da resistência, principalmente em relação a movimentação das lagartas (Mallet e Porter, 1992).

O comportamento alimentar e o movimento das lagartas de pragas-alvo que apresentam alta mobilidade pode desempenhar um papel importante na avaliação da estratégia de mistura de sementes para retardar a evolução da resistência (Davis e Onstad, 2000, Yang, 2017). Nos casos em que uma maior quantidade de lagartas

se movimentarem de plantas não-Bt para plantas Bt, estas podem ser expostas a subdoses das proteínas Bt, levando à sobrevivência de heterozigotos (RS) e um aumento na taxa de evolução da resistência (Murphy et al., 2010). Espécies que não exibem movimentação larval ou pouco móveis, como a broca-do-colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) provavelmente não seria afetada pela mistura de sementes quando utilizado eventos de milho com pirâmide genes (Wangila et al., 2013). O contrário foi observado para a broca-européia do milho, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) (Onstad e Gould, 1998). Além da preocupação da mistura de sementes em retardar a evolução de resistência, alguns estudos sugerem que implantar essa estratégia ainda é melhor do que a não adoção de áreas de refúgio (Carrol et al., 2012).

No entanto, dados científicos que suportem a estratégia de mistura de sementes em milho Bt ainda são limitados e tem sido um tema discutido por mais de duas décadas (Mallet e Porter, 1992; Onstad et al., 2011; Carroll et al., 2012; Carrière et al., 2016). Estudos dos efeitos de misturas de sementes em milho Bt piramidado na sobrevivência e na movimentação de lagartas de *S. frugiperda* são ausentes. Estratégias adequadas de MRI são necessárias para *S. frugiperda*, pois a espécie é a única no mundo a desenvolver a resistência a proteína Cry1F, em três países, além de Cry1Ab no Brasil.

Neste contexto, visando otimizar estratégias para o manejo de resistência a *S. frugiperda* este trabalho objetivou, avaliar: 1) a sobrevivência e o desenvolvimento de lagartas de *S. frugiperda* expostas ao longo da fase larval em milho Bt piramidado e não-Bt; 2) a mobilidade larval de *S. frugiperda* em quatro esquemas de plantio com milho Bt piramidado e não-Bt e, 3) a estratégia de mistura de sementes, em quatro proporções de mistura de sementes, nas safras de verão e inverno, em dois anos agrícolas (2016 e 2017) com milho Bt piramidado e não-Bt. Em todos os experimentos foram utilizados os eventos de milho Bt, MON 89034 × MON 88017 e Bt11 × MIR 162, referidos como Agrisure Viptera 3110 e YieldGard VT Pro 3, respectivamente, e suas linhas isogênicas (não-Bt).

3. Referências

Adamczyk JJ, Leonard BR, Graves JB (1999) Toxicity of selected insecticides to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory bioassay studies. **Florida Entomologist** 82: 230-236.

Afonso APS, Wrege M, Martins JFS, Nava DE (2009) Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. **Arquivos do Instituto Biológico** 76:607-612.

Ali A, Luttrell RG, Pitre HN (1990) Feeding sites and distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on cotton. **Environmental Entomology** 19:1060-1067.

Alstad DN, Andow DA (1995) Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. **Science** 268:1894-1896.

Andow DA (2008) The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. **Collection of Biosafety Reviews** 4:142-199.

Andrews KL (1988) Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist** 71:630-653.

Bates SL, Zhao JZ, Roush RT, Shelton AM (2005) Insect resistance management in GM crops: past, present and future. **Nature Biotechnology** 23:57-62.

Bravo A, Gill S, S Soberón, M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon** 49:423-435.

Bravo A, Sarabia S, Lopez L, Abarca C, Ortiz A, Ortiz M, Lina L, Villalobos FJ, Peña G, Nuñez-Valdez ME, Soberón M (1998) Quintero R. Characterization of cry genes in a mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology** 64:4965-4972.

Brévault T, Heuberger S, Zhang M, Ellers-Kirk C, Ni X, Massond L, Lib X, Tabashnik BE, Carrière Y (2013) Potential shortfall of pyramided transgenic cotton for insect resistance management. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 110:5806-5811.

Burkness EC, O'Rourke PK, Hutchison WD (2011) Cross-pollination of nontransgenic corn ears with transgenic Bt corn: efficacy against lepidopteran pests and implications for resistance management. **Journal of Economic Entomology** 104:1476-1479.

Burkness EC, Cira TM, Moser SE, Hutchison WD (2015) Bt Maize Seed Mixtures for *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae): Larval Movement, Development, and Survival on Non-transgenic Maize. **Journal of Economic Entomology** 108:2761-2769.

Busato GR, Grützmacher AD, Oliveira AC, Vieira EA, Zimmer PD, Kopp MM, Bandeira JM, Magalhães TR (2004) Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology** 31:525-529.

Capinera, JL (2001) **Handbook of vegetable pests**. San Diego: Academic Press. 2700 p.

Carrière Y, Crowder DW, Tabashnik BE (2010) Evolutionary ecology of insect adaptation to Bt crops. **Evolutionary Applications** 3:561-573.

Carrière Y, Fabrick JA, Tabashnik BE (2016) Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt crops? **Trends in biotechnology** 34:291-302.

Carroll MW, Head G, Caprio M (2012) When and where a seed mix refuge makes sense for managing insect resistance to Bt plants. **Crop Protection** 38:74-79.

Casmuz A, Juárez ML, Socías MG, Murúa MG, Prieto S, Medina S, Willink E, Gastaminza G (2010) Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina** 69:209-231.

Chakroun M, Banyuls N, Bel Y, Escriche B, Ferré J (2016) Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 80:329-350.

Crow JF (1957) Genetics of insect resistance to chemicals. **Annual Review of Entomology** 2:227-246.

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

Cruz I (2008) Manejo de pragas da cultura do milho. In: CRUZ JC, MONTEIRO DKMAR, MAGALHÃES PC (Ed.). **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 303-362.

Cruz I, Figueiredo M, Oliveira AC, Vasconcelos CA (1999) Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management** 45:293-296.

Cruz I, Figueiredo M, Silva RB, Silva IF, Paula CS, Foster JE (2012) Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda)* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in maize. **International Journal of Pest Management** 58:83-90.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2007) **Liberação comercial de milho geneticamente modificado resistente a insetos evento MON810**. Parecer Técnico N° 1.100/2007. Brasília, 19p.

CTNBio. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2009) **Liberação comercial do milho geneticamente modificado resistente a insetos evento MON89034**. Parecer Técnico N° 2052/2009. Brasília, 26 p.

CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2018) **Plantas geneticamente modificadas aprovadas para comercialização**. Disponível em: http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial#/liberacao-comercial/consultar-processo. Acesso em: 06 de jun. de 2018.

Davis PM, Onstad, DW (2000) Seed mixtures as a resistance management strategy for European corn borers (Lepidoptera: Crambidae) infesting transgenic corn expressing Cry1Ab protein. **Journal of Economic Entomology** 93:937-948.

De Maagd, RA, Bravo A, Berry C, Crickmore N, Schnepf E (2003) Structure, diversity and evolution of protein toxins from spore forming entomopathogenic bacteria. **Annual Review of Genetics** 37:409-433.

Erasmus A, Marais J, Van den Berg J (2016) Movement and survival of *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae within maize plantings with different ratios of non-Bt and Bt seed. **Pest Management Science** 72:2287-2294.

Farias JR, Andow DA, Horikoshi RJ, Sorgatto RJ, Fresia P, Santos AC, Omoto C (2014) Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection** 64:150-158.

Ghimire MN, Huang F, Leonard R, Head GP, Yang Y (2011) Susceptibility of Cry1Ab-susceptible and-resistant sugarcane borer to transgenic corn plants containing single or pyramided Bacillus thuringiensis genes. **Crop Protection** 30:74-81.

Gould F (1996) Deploying pesticidal engineered crops in developing countries. In: Persley GJ (Ed.) **Biotechnology and Integrated Pest Management**. CABI: Wallingford, p.264-293.

Gould F (1998) Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology** 43:701-726.

Gould F, Tabashnik B (1998) Bt-Cotton Resistance Management. In. Mellon M, Rissler J. (Eds.). **Now or never: serious new plans to save a natural pest control**. Cambridge: Union of Concerned Scientists, p.65-105.

Head GP, Greenplate J (2012) The design and implementation of insect resistance management programs for Bt crops. **GM Crops & Food** 3:144-153.

Huang F, Qureshi JA, Meagher Jr RL, Reisig DD, Head GP, Andow DA, Ni X, Kerns D, Buntin GD, Niu Y, Yang F, Dangal V (2014) Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. **PLoS one** 9: e112958.

Hutchison WD, Burkness EC, Mitchell PD, Moon RD, Leslie TW, Fleischer SJ, Abrahamson M, Hamilton KL, Steffey KF, Gray ME, Hellmich RL, Kaster LV, Hunt TE, Wright RJ, Pecinovsky K, Rabaey TL, Flood BR, Raun ES (2010) Areawide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. **Science** 330:222–225.

IRAC- Insect Resistance Action Committee (2018) Recomendações de manejo da resistência a inseticidas e manejo de pragas para soja, algodão e milho no Brasil. [Online]. Insect **Resistance Action Committee**. Disponível em: http://media.wix.com/ ugd/2bed6c_52f993a9b3ed4c548138d3fbf81c283c.pdf. Acesso em 28 de jun. 2018.

James C (2017) **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops**: 2017 Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. Ithaca: ISAAAA, 2017. (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, ISAAA Brief, 53).

Kennedy GG, Gould F, Deponti OMB, Stinner RE (1987) Ecological, agricultural, genetic and commercial considerations in the deployment of insect-resistant germplasm. **Environmental Entomolology** 16:327-338.

Klümper W, Qaim M (2014) A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. **PLoS one**. 9:e111629.

Lee MK, Miles P, Chen J (2006) Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 339:1043-1047.

Luginbill P (1928) **The Fall Armyworm**. Washington: USDA: United States Department of Agriculture, 91 p. (USDA. Technical Bulletin, 34).

Mallet J, Porter P (1992) Preventing insect adaptation to insect-resistant crops: are seed mixtures or refugia the best strategy? **Proceedings of the royal society** 250:165-169.

Matten SR, Head GP, Quemada HD (2008) How governmental regulation can help or hinder the integration of Bt crops within IPM programs. In: ROMEIS J, SHELTON AM, KENNEDY GG. **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. New York: Springer, p.27-39.

Monnerat R, Martins E, Macedo C, Queiroz P, Praça L, Soares CM, Moreira H, Grisi I, Silva J, Soberon M, (2015) Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins **PLoS one** 10:e0119544.

Moscardi F, Kastelic JG (1985) **Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja/PR**. In: EMBRAPA-CNPSo. Resultados de pesquisa de soja 1984/85. Londrina: Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Soja, 128 p. (Embrapa/CNPSo. Documentos, 15).

Murphy AF, Ginzel MD, Krupke CH (2010) Evaluating western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) emergence and root damage in a seed mix refuge. **Journal of Economic Entomology** 103:147-157.

Murúa G, Virla E (2004) Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasess in Tucuman (Argentina). **Acta Zoológica Mexicana** 20:199-210.

Murúa MG, Vera MT, Abraham S, Juárez ML, Prieto S, Head GP, Willink E (2008) Fitness and mating compatibility of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations from different host plant species and regions in Argentina. **Annals of the Entomological Society of America** 101:639-649.

Nagoshi RN, Rosas-García NM, Meagher RL, Fleischer SJ, Westbrook JK, Sappington TW, Hay-Roe M, Thomas JGM, Murúa GM (2015) Haplotype profile comparisons between *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Mexico with those from Puerto Rico, South America, and the United States and their implications to migratory behavior. **Journal of Economic Entomology** 108:135-144.

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016) Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736.

Onstad DW (2014) **Insect resistance management**: **biology, economics and prediction**, 2nd. London: Academic Press. 538 p.

Onstad DW, Crespo ALB, Pan Z, Crain PR, Thompson SD, Pilcher CD, Sethi, A (2017) Blended refuge and insect resistance management for insecticidal corn. **Environmental entomology** 47:210-219.

Onstad DW, Meinke LJ (2010) Modeling evolution of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) to transgenic corn with two insecticidal traits. **Journal of Economic Entomology** 103:849-860.

Onstad DW, Mitchell PD, Hurley TM, Lundgren JG, Porter RP, Krupke CM, Spencer JL, DiFonzo CD, Baute TS, Hellmich RL, Buschman LL, Hutchison WD, Tooker JF (2011) Seeds of change: corn seed mixtures for resistance management and integrated pest management. **Journal of Economic Entomology** 104:343-352.

Pitre HN, Hogg DB (1983) Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. **Journal of the Georgia Entomological Society** 18:187-194.

Pogue GM (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society** 43, 202 p.

Romeis J, Shelton AM, Kennedy GG (2008) **Integration of insect-resistant genetically modified crops whith IPM programs**. New York: Springer. 441 p.

Sappington TW (2014) Emerging issues in integrated pest management implementation and adoption in the North Central USA. In: Peshin R, Pimentel D. **Integrated Pest Management**. New York: Springer. p. 65-97.

Sparks AN (1979) A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist** 62:82-87.

Storer NP, Babcock JM, Schlenz M, Meade T, Thompson GD, Bing JW, Huckaba RM (2010) Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology** 103:1031-1038.

Tabashnik BE, Brévault T, Carrière Y (2013) Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology** 31:510-521.

Tabashnik BE, Gassmann AJ, Crowder DW, Carrière Y (2008) Insect resistance to bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology** 26:199-202.

Tabashnik BE, Mota-Sanchez D, Whalon ME, Hollingworth RM, Carrière Y (2014) Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. **Journal of Economic Entomology** 107:496-507.

Téllez-Rodriguez P, Raymond B, Morán-Berto I, Rodríguez-Cabrera L, Wright DJ, Borroto CG, Ayra-Prado C (2014) Strong oviposition preference for Bt over non-Bt maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. **BMC Biology** 12:48.

Villarreal PJ (1985) **Manual de los principales insectos plagas del arroz en Piura**. CIPCA: Piura 55p.

Wangila DS, Leonard BR, Ghimire MN, Bai Y, Zhang L, Yang Y, Emfinger KD, Head GP, Yang F, Niu Y, Huang F (2013) Occurrence and larval movement of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) in seed mixes of non-Bt and Bt pyramid corn. **Pest Management Science** 69:1163-1172.

Yang F, Kerns DL, Brown S, Head GP, Huang F (2017) Pollen contamination in seed mixture increases the dominance of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest management science** 73:2379-2385.