

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

**RESISTÊNCIA DE MILHO CONVENCIONAL E
TRANSGÊNICO E EFEITOS DA IDADE DA PLANTA NO
DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E.
SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Stéfane Carolina Quista da Silva Faria
Engenheira Agrônoma**

2018

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

**RESISTÊNCIA DE MILHO CONVENCIONAL E
TRANSGÊNICO E EFEITOS DA IDADE DA PLANTA NO
DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E.
SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Stéfane Carolina Quista da Silva Faria

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Marina Robles Angelini

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

2018

F224r Faria, Stéfane Carolina Quista da Silva
Resistência de milho convencional e transgênico e efeitos da idade da planta no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) / Stéfane Carolina Quista da Silva Faria. -- Jaboticabal, 2018
iv, 51 p. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018
Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior
Banca examinadora: Bruno Henrique Sardinha de Souza, Ricardo Antônio Polanczyk
Bibliografia

1. Lagarta-do-cartucho. 2. *Zea mays*. 3. Milho Bt. 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 – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

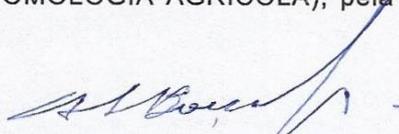
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: RESISTÊNCIA DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO E EFEITOS DA IDADE DA PLANTA NO DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

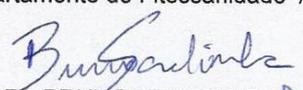
AUTORA: STÉFANE CAROLINA QUISTA DA SILVA FARIA

ORIENTADOR: ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR

COORIENTADORA: MARINA ROBLES ANGELINI

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


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


Prof. Dr. BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA
Departamento de Entomologia-UFLA / Lavras/MG


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

Jaboticabal, 10 de julho de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Stéfane Carolina Quista da Silva Faria, nascida em Uberlândia, Minas Gerais, no dia 24 de fevereiro de 1989, filha de Roberto Pereira da Silva e Nilza Aparecida Quista da Silva, cursou o Ensino Fundamental na Escola Municipal de Indianópolis e Ensino Médio na Escola Estadual Nelson Soares de Oliveira ambas no município de Indianópolis, Minas Gerais. Ingressou no Ensino Superior no ano de 2005 no curso de Nutrição, pela Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC na cidade de Araguari, como bolsista do Programa Universidade para Todos (ProUni). No ano de 2011 ingressou na Primeira Turma de Engenharia Agrônômica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro - IFTM, na cidade de Uberlândia. Durante a graduação, desenvolveu projetos de iniciação científica na área de concentração em Entomologia Agrícola. Em março de 2016 iniciou o curso de Mestrado no programa de pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, desenvolvendo suas pesquisas e estudos no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, localizado no Departamento de Fitossanidade da mesma Universidade, sob a orientação do Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior.

“Disse a flor para o pequeno príncipe: é preciso que eu
suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as
borboletas.”

Antoine de Saint-Exupéry

Dedico

Ao meu amado esposo, por todo amor,
carinho e, sobretudo, seu apoio
incondicional durante a elaboração dessa
Dissertação.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Roberto Pereira da Silva e Nilza Aparecida Quista da Silva pelo amor, apoio e compreensão.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP/FCAV, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, pela orientação, ensinamentos, principalmente pelo seu incentivo e disposição em todos os momentos.

À Prof. Dra. Marina Robles Angelini, por participar em praticamente todos os momentos importantes da minha formação acadêmica, pela coorientação neste trabalho, disponibilidade e amizade.

Ao Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia do Triângulo Mineiro, Campus Uberlândia pela estrutura oferecida e todos os funcionários que se disponibilizaram a me ajudar durante a execução do meu experimento de campo.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Entomologia Agrícola pelos conhecimentos transmitidos no decorrer do curso.

Aos Professores Dra. Nilza Maria Martinelli e Dr. Raphael de Campos Castilho pela participação e colaboração no meu Exame Geral de Qualificação.

À minha amiga Natália Sarmanho Monteiro Lima, pela amizade, paciência e cuidado em todos os dias de convivência em nossa moradia.

Aos amigos Aline Santos Pereira Costa, Nathany Rodrigues, Daniele Fernanda Pereira e Ana Paula Nunes, que apesar da distância, sempre pude contar com o carinho, apoio e incentivo.

Aos amigos Paulo Barcelos Soares e Luciano Nogueira pelo carinho, amizade e contribuição na execução deste trabalho.

Aos amigos Thais Juliane do Prado, Maiara Alexandre Cruz, Hurian Gallinari Holzhausen, Sandy Sousa Fonseca, Kelly Cristina Gonçalves, Gilmar Nunes pela amizade, companheirismo e maravilhosos momentos compartilhados.

Ao amigo Wellington Ivo Eduardo pela recepção no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, aos conhecimentos repassados, pela enorme contribuição com as análises estatísticas e especialmente pela amizade.

Aos colegas do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos: Bruno Henrique Sardinha de Souza, Mirella Marconato Di Bello, Marcelo Muller de Freitas, Carlos Alessandro de Freitas.

Ao Técnico do Laboratório Zulene Antônio Ribeiro pelo incentivo e disponibilidade nos momentos de necessidade.

A todos os funcionários e demais estudantes do Programa de Pós Graduação em Entomologia Agrícola, pela amizade e bom convívio.

As pessoas maravilhosas que me acolheram em Jaboticabal, em especial à Daiane Cristina Marconato, Diego Rodrigo Carange Alves, Sérgio Faustini Campos, Marcelo Soares e Mercês Borges, pela amizade, conselhos e bons momentos compartilhados.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1. A cultura do milho.....	2
2.2. Aspectos bioecológicos associados à <i>Spodoptera frugiperda</i>	4
2.3. Resistência de plantas a insetos	7
2.4. Milho geneticamente modificado resistente a insetos	8
2.5. Resistência de pragas a toxinas Bt	10
3. Referências	12
CAPÍTULO 2 – RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO A <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH, 1797) EM CONDIÇÕES DE CAMPO	22
Resumo.....	22
Abstract	23
1. Introdução	24
2. Material e métodos.....	25
3. Resultados e discussão.....	27
4. Conclusões.....	30
5. Referências	31
CAPÍTULO 3 – EFEITO DOS DIFERENTES HÍBRIDOS DE MILHO NO DESENVOLVIMENTO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	34
Resumo.....	34
Abstract	35
1. Introdução	36
2. Material e métodos.....	37
3. Resultados e discussão.....	39

4. Conclusão	46
5. Referências	47
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51

RESISTÊNCIA DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO E EFEITOS DA IDADE DA PLANTA NO DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – Dentre as principais pragas da cultura do milho (*Zea mays* L.), a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada a mais prejudicial. Por ser uma praga polífaga e ocorrer em todas as regiões produtoras, tanto na primeira safra, como nos de segunda safra (safrinha), causa consideráveis perdas na produção. Com a frequente utilização do milho transgênico, populações de insetos resistentes às proteínas Bt são a maior ameaça a essa tecnologia. Portanto, o presente estudo tem por objetivo avaliar em condições de campo a infestação de *S. frugiperda* em híbridos de milho convencional e transgênicos com diferentes eventos Bt e os danos causados pelo ataque da lagarta; e, em laboratório, avaliar o efeito do milho Bt e não Bt no desenvolvimento de lagartas de *S. frugiperda*. Nos experimentos conduzidos em condições de campo foram avaliados os danos causados pela lagarta nos diferentes estádios do milho. Foi constatado que os híbridos Bt com as tecnologias Herculex[®] (Cry1F) e Optimum Intrasect[®] (Cry1F + Cry1Ab) tiveram danos semelhantes ao híbrido não Bt avaliado. O híbrido com tecnologia Viptera[®] (VIP3Aa20) apresentou menores notas de dano causado por *S. frugiperda*. Em condições de laboratório, foi avaliada a influência dos diferentes híbridos de milho no desenvolvimento de lagartas de primeiro e terceiro ínstar. As seguintes variáveis foram analisadas: tempo de sobrevivência em lagartas de primeiro ínstar; duração das fases larval e pupal, peso de lagartas aos 14 dias de idade, sobrevivência larval aos 14 dias e da fase larval, viabilidade pupal, peso de pupas com 24 horas de idade, porcentagem de pupas e adultos deformados, razão sexual, longevidade dos adultos e duração do ciclo para as lagartas de terceiro ínstar. As principais variáveis biológicas de *S. frugiperda*, como período larval, peso de pupas e longevidade de adultos foram afetadas em função do tamanho da lagarta exposta ao híbrido transgênico, pela idade da planta e pela proteína inseticida expressa pela planta de milho Bt. As lagartas de primeiro ínstar são mais suscetíveis que as lagartas de terceiro aos efeitos das toxinas Bt, independente da tecnologia. Lagartas de terceiro ínstar alimentadas com híbridos de milho com as tecnologias PowerCore[™], Herculex[®] e Optimum Intrasect[®] têm desenvolvimento similar às lagartas alimentadas com milho não Bt.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho; *Zea mays*; milho Bt; resistência de plantas a insetos.

RESISTANCE OF CONVENTIONAL AND TRANSGENIC MAIZE AND EFFECTS OF PLANT AGE IN THE DEVELOPMENT OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – Among the main pests of the maize crop (*Zea mays* L.), the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), can be considered the most damaging. Because it is a polyphagous pest and occurs in all producing regions, both in the first crop and in the off-season, it causes considerable losses in production. With the frequent use of transgenic maize, insect populations resistant to Bt proteins are the greatest threat to this technology. Therefore, the present study aims to evaluate in field conditions the infestation of *S. frugiperda* in conventional and transgenic maize hybrids with different Bt events and the damages caused by the caterpillar attack; and in the laboratory, to evaluate the effect of Bt and non-Bt maize on the development of *S. frugiperda* caterpillars. In the experiments conducted under field conditions, the damage caused by the caterpillar in the different corn stages was evaluated. It was found that the Bt hybrids with Herculex[®] (Cry1F) and Optimum Intrasect[®] (Cry1F + Cry1Ab) technologies had similar damages to the non-Bt hybrid evaluated. The hybrid with Viptera[®] technology (VIP3Aa20) was the most efficient in the control of *S. frugiperda*. In the second phase, under laboratory conditions, the influence of the different maize hybrids on the development of first and third instar caterpillars was evaluated. The following variables were analyzed: survival time in first instar caterpillars; larval and pupal stages, pupal viability, pupal weight at 24 hours, percentage of deformed pupae and adults, sex ratio, longevity of pupae and larval stages, larval stage survival at 14 days and pupal viability. The main biological variables of *S. frugiperda*, such as larval period, pupal weight and adult longevity were affected by the size of the caterpillar exposed to the transgenic hybrid, by the age of the plant and by the insecticidal protein expressed by the Bt maize plant. First instar caterpillars are more susceptible than third caterpillars to the effects of Bt toxins, regardless of technology. Third instar larvae fed corn hybrids with PowerCore[™], Herculex[®] and Optimum Intrasect[®] technologies have similar development to caterpillars fed on non-Bt maize.

Key-words: Fall armyworm, *Zea mays*, Bt maize, host plant resistance.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Introdução

Mundialmente, a cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma das mais importantes no contexto econômico e social, com produção superior a 930 milhões de toneladas na safra 2016/2017, sendo o Brasil o terceiro produtor mundial, depois dos EUA e China (USDA, 2018). No Brasil, a área cultivada de milho foi de 17,5 milhões de ha, na safra 2016/2017, correspondendo à produção de 97,7 milhões de toneladas, com produtividade média de 5.554 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). Apesar da importância da cultura, sua produtividade ainda é considerada baixa, onde se destaca o ataque de pragas como um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade.

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) causa injúrias em praticamente toda a fase vegetativa do milho, e em função destas, foram observadas reduções significativas nos índices de produtividade das lavouras, podendo chegar a perdas de até 100%, caso não sejam adotadas estratégias de controle (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006; FERNANDES; CARNEIRO, 2006; FIGUEIREDO; MARTINS-DIAS; CRUZ, 2006; ARAÚJO et al., 2011; MICHELOTTO et al., 2011; TOSCANO et al.; 2012).

O controle de *S. frugiperda* através da pulverização de inseticidas foi, durante muitos anos, a principal forma de controle na cultura do milho (DIÉZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001), porém, o curto tempo de desenvolvimento e alta fecundidade dessa praga aliados ao uso indiscriminado desses produtos implicou na seleção de populações de insetos resistentes (YU, 2006; YU; McCORD JR., 2007; CARVALHO et al., 2013).

A contínua busca de alternativas de controle possibilitou o desenvolvimento de novas tecnologias, como plantas de milho geneticamente modificadas (GM) que expressam proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Eubacteriales: Bacillaceae) (Bt). O milho Bt é uma importante tática de proteção de plantas dentro do Manejo Integrado de Plantas (MIP), pois além de reduzir as perdas causadas por pragas (BETZ; HAMMOND; FUCHS, 2000), auxilia na redução da aplicação de inseticidas (ROMEIS; MEISSLE; BIGLER, 2006) e, aliado à alta

seletividade, pode proporcionar uma produção mais sustentável (COMAS et al., 2013).

A adoção de plantas de milho Bt representa grande importância na cultura do milho. Segundo o relatório anual da International Service for the Acquisition of Agri-Biothec Applications (ISAAA), o Brasil é o segundo maior produtor de transgênicos no mundo, à frente da Argentina e atrás dos EUA (ISAAA, 2017). No Brasil, a adoção de plantas de milho Bt na safra 2016/17 foi de 88,4% da área semeada nos cultivos de verão e inverno, o que representa 15,7 milhões de hectares (CÉLERES, 2017).

Apesar dos benefícios, a utilização de plantas transgênicas tem despertado o interesse dos pesquisadores e dos órgãos de regulamentação, principalmente sobre a possibilidade de evolução de resistências de pragas às proteínas Bt (TABASHNIK; BREVAULT; CARRIÈRE, 2013). O primeiro relato confirmado de resistência de *S. frugiperda* ao milho Bt ocorreu em Porto Rico, à proteína Cry1F (STORER et al., 2010). No Brasil foi constatada a resistência de *S. frugiperda* às proteínas Cry1F (FARIAS et al., 2014) e Cry1Ab (OMOTO et al., 2016).

Desse modo, considerando-se a importância de *S. frugiperda* como praga de milho, bem como a importância de estudos desse inseto em milho com diferentes toxinas Bt no Brasil, o presente estudo tem por objetivo avaliar em condições de campo a infestação de *S. frugiperda* em híbridos de milho convencional e transgênicos com diferentes eventos Bt e as injúrias causadas pelo ataque da lagarta, e em laboratório, comparar a resistência dos híbridos em diferentes estádios da planta no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho.

2. Revisão de literatura

2.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie diploide e alógama, pertencente à família Poaceae (Gramineae). É considerada uma das plantas cultivadas mais antigas e um dos vegetais superiores mais estudados, além de possuir detalhada

caracterização genética. Hoje, é uma cultura totalmente dependente da ação do homem, devido sua intensa domesticação (COSTA SANTOS, 2009).

Acredita-se que a cultura do milho seja originária da América do Norte, e as evidências apontam que a descoberta da espiga antiga foi na região sudeste do México (BUCKLER; STEVENS, 2006). Várias hipóteses foram levantadas a respeito da sua descendência, porém, as mais consistentes são as que afirmam que o milho teria se originado do teosinte, através da seleção praticada pelo homem (GALINAT, 1977; BEADLE, 1978).

Possui ampla variabilidade genética sendo identificadas atualmente cerca de 300 raças e, dentro de cada raça, inúmeras variedades. Além disso, essa cultura também possui ampla adaptação ambiental e uma grande diversidade para caracteres quantitativos e qualitativos, incluindo a composição química dos grãos, reação a doenças, capacidade produtiva, arquitetura de planta, ciclo, entre outros (PATERNIANI; NASS; SANTOS, 2000).

Estudos afirmam que há cerca de 4.000 anos o milho já existia como cultura e apresentava as principais características morfológicas que o definem botanicamente na atualidade. Após a descoberta da América, o milho foi levado para a Espanha, Portugal, França, e Itália, onde foi inicialmente cultivado em jardins, mas como planta exótica e ornamental. Uma vez reconhecido seu valor alimentar, passou a ser cultivado como planta econômica e difundiu-se para o resto da Europa, Ásia e Norte da África (CAMPOS; CANÉCHIO FILHO, 1987).

Em função do seu potencial produtivo, composição química e valor nutricional, o milho é considerado um dos mais importantes cereais cultivados e consumidos em todo o mundo, tanto para alimentação humana quanto para alimentação animal. Devido à multiplicidade de aplicações nos diversos segmentos da atividade humana, desempenha importante papel socioeconômico, além de constituir matéria-prima nos diversificados complexos agroindustriais (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

No Brasil, a cultura do milho apresenta grande dispersão geográfica, uma vez que é produzida, praticamente, em todo território nacional, onde é explorado na maioria das propriedades agrícolas, desde a pequena propriedade rural, onde é produzido com baixa tecnologia, até em grandes áreas, com emprego de alta tecnologia e elevada produtividade (AGRIANUAL, 2014). Dados da Companhia

Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017) mostram que na safra 2016/17 a área cultivada com o cereal no país foi de aproximadamente 17 milhões de hectares, sendo que em torno de cinco milhões foi cultivado na primeira safra e 12 cultivados na segunda safra.

O milho é cultivado durante o ano todo, sendo a produção dividida em duas épocas de plantio, o plantio de verão, ou primeira safra, e o plantio na chamada segunda safra, ou safrinha (TSUNECHIRO et al., 2006). A Região Sul começa o plantio do milho de primeira safra em julho, mas com picos de semeadura de agosto a outubro. As Regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte, com exceção do Tocantins, plantam de outubro a dezembro; os estados do Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia plantam de novembro a fevereiro; e o restante da Região Nordeste (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco) semeiam a partir de janeiro, se o regime pluviométrico permitir (CONAB, 2017). O milho de segunda safra geralmente é semeado em fevereiro ou março, quase sempre depois da soja precoce. As áreas de cultivo predominam na região Centro-Oeste e no Sudeste, nos estados do Paraná e São Paulo (FORNASIERI FILHO, 2007; SANS; GUIMARÃES, 2010).

2.2 Aspectos bioecológicos de *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho é nativa das zonas tropical e subtropical das Américas, com distribuição abrangente desde o sul do Canadá até a Argentina. Foi reconhecida pela primeira vez em 1797, na Geórgia (EUA) por J. E. Smith. No Brasil, os primeiros relatos de ocorrência foram nos estados de Pernambuco, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Distrito Federal, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Encontra-se presente em todas as regiões de cultivo, em função das condições favoráveis para o seu desenvolvimento (CRUZ et al., 2013).

Apesar de apresentar preferência alimentar por poáceas (BUSATO et al., 2005), *S. frugiperda* é um inseto polífago, com cerca de 180 espécies de plantas hospedeiras em sua zona de ocorrência (CASMUZ et al., 2010), destacando-se além do milho (*Z. mays*), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), arroz (*Oryza sativa* L.), algodão (*G. hirsutum*), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), soja (*Glycine max* L.),

hortaliças, dentre outros (CRUZ, 1995; CAPINERA, 2002; POGUE, 2002; YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003; SÁ et al., 2009; CASMUZ et al., 2010).

Apresenta desenvolvimento holometabólico, ou seja, passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. O adulto é uma mariposa, com cerca de 35 mm de envergadura e o comprimento do corpo é de cerca de 15 mm, com coloração cinza. As asas anteriores do macho possuem manchas mais claras, diferenciando-os das fêmeas. As asas posteriores de ambos os sexos são claras e circundadas por linhas marrons. A abertura anal nas fêmeas é um traço reto longitudinal e, nos machos, é um traço reto longitudinal, seguido de curvas laterais circundantes (CRUZ, 1995; POGUE, 2002).

Os adultos têm hábito noturno e não são ativos durante o dia. Quando perturbados, voam de maneira errática até encontrarem outro esconderijo nas proximidades. Sua atividade diária inicia-se com o pôr do sol, quando as mariposas se movimentam nas proximidades das plantas hospedeiras mais favoráveis a sua alimentação, acasalamento e oviposição. Essa atividade atinge o pico duas a quatro horas depois do início, quando as condições de temperatura são mais favoráveis (SPARKS, 1979; CRUZ, 1995).

Após o acasalamento, a fêmea faz a postura nas folhas de milho, em grupos de 50 a 300 ovos, podendo chegar a 1.000 ovos por fêmea, formando uma massa de ovos sobrepostos entre si. Os ovos são circulares, com diâmetro de 0,39 mm quando visto de cima, e em vista de perfil a forma é oblonga esferoidal. Logo após a postura, o ovo apresenta coloração verde-clara, passando para uma coloração alaranjada após 12 a 15 horas. Próximo à eclosão das lagartas, mostra-se escurecido, devido cor escurecida da cápsula cefálica. A massa de ovos é coberta por uma camada fina de escamas, colocada pela fêmea por ocasião da postura (GALLO et al., 2002).

A primeira alimentação das lagartas recém-eclodidas é o cório. Depois permanecem em repouso por um tempo variável de duas a 10 horas. Assim que encontram hospedeiros adequados, começam a se alimentar, de preferência, das folhas centrais e novas do cartucho. Logo após a eclosão, as larvas são esbranquiçadas, mas após a alimentação tornam-se e medem aproximadamente 1,9 mm de comprimento (CRUZ; VIANA; WAQUIL, 1999; BUSATO et al., 2004).

À medida que se desenvolvem, passam a perfurar as folhas e também a penetrar no colmo através do cartucho, o que prejudica o desenvolvimento da planta, causando o sintoma conhecido como “coração morto”. Essa espécie também ataca as espigas, ocasionando má formação ou até mesmo a não formação dos grãos. Ocorrem também danos indiretos causados por seu ataque, pois as injúrias são portas de entrada de fungos e bactérias causadores de várias doenças, diminuindo o potencial de produção e a qualidade dos grãos (CRUZ, 1995).

Ao atingir seu máximo desenvolvimento, as lagartas apresentam o corpo cilíndrico, com coloração marrom-acinzentada no dorso, esverdeada nas partes ventral e subventral, sendo que esta última apresenta mancha de coloração marrom avermelhada. As linhas dorsais e subdorsais são proeminentes (CRUZ; VIANA; WAQUIL, 1999). Apresentam um “Y” invertido na parte frontal da cabeça e medem aproximadamente 35-40 mm de comprimento (CRUZ et al., 1997). Durante a fase larval, o inseto pode apresentar de quatro a sete ínstares, variando conforme a fonte de alimento, temperatura, sexo e genética (POLANCZYK, 2004). Após completarem o desenvolvimento larval, penetram no solo, onde constroem galerias e se transformam em pupas (GALLO et al., 2002).

A pupa mede cerca de 15 mm de comprimento, é inicialmente de coloração verde-clara, com tegumento transparente. Em seguida, torna-se avermelhada e, à medida que se aproxima da emergência do adulto, torna-se mais escura. Dependendo da temperatura, a fase de pupa pode durar de seis a 55 dias (GALLO et al., 2002). Nas épocas mais quentes do ano, esse período pode variar entre 10 a 12 dias (CRUZ et al., 1997).

Em uma temperatura média acima de 25° C, o ciclo total do inseto pode ser completado em menos de 30 dias, possibilitando a essa espécie a produção de várias gerações durante o ano (CRUZ; MONTEIRO, 2004).

O controle dessa praga tem demandado aumento no número de pulverizações com inseticidas, e o uso indiscriminado desses produtos contribuiu para a seleção de populações de insetos resistentes, trazendo para os produtores de milho uma grande preocupação (PETZOLD-MAXWELL et al., 2014). O emprego de estratégias de manejo integrado deve ser inserido nos programas de controle da lagarta-do-cartucho, com a finalidade de obter resultados econômicos e ecológicos

favoráveis. Dentre essas estratégias, a utilização de plantas resistentes é bem conhecida pelas suas vantagens biológicas e ambientais (HAMM; WISEMAN, 1986). Os materiais resistentes interferem na biologia e no comportamento da praga de tal forma que as populações remanescentes passam a produzir indivíduos menos vigorosos e mais suscetíveis aos inseticidas, permitindo o uso mais racional dos produtos químicos (VIANA; POTENZA, 2000).

2.3 Resistência de plantas a insetos

A Resistência de Plantas encontra-se entre os métodos mais conhecidos de controle de insetos e adequa-se ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois se trata de uma medida alternativa ao controle químico convencional de pragas. É definida como a soma relativa de qualidades fenotípicas físicas, morfológicas e/ou químicas apresentadas pelas plantas, as quais influenciam o dano provocado pelo inseto (GALLO, 2002; SMITH; CLEMENT, 2012; BOIÇA JÚNIOR et al., 2014). É uma ferramenta importante dentro de programas de MIP, pois mantém a população do inseto-praga abaixo do nível de dano econômico, auxilia na redução do desequilíbrio do agroecossistema, diminui custos de produção, além de ser compatível com outras táticas de controle (LARA, 1991; BOIÇA JÚNIOR et al., 2013).

Em função dos diferentes mecanismos de que as plantas se utilizam para serem menos infestadas e injuriadas pelas pragas, existem basicamente três tipos de resistência: não preferência ou antixenose, antibiose e tolerância. A não preferência ocorre quando a planta é menos utilizada para alimentação, oviposição ou abrigo em comparação com outra em igualdade de condições. A antibiose ocorre quando o inseto, ao se alimentar de uma planta resistente, tem o seu desenvolvimento afetado principalmente por compostos químicos presentes nas plantas. A tolerância está relacionada com a capacidade de a planta suportar o seu ataque da praga, sem causar redução da sua produção e qualquer efeito sobre a mesma (PAINTER, 1951; LARA, 1991; SMITH; CLEMENT, 2012; BOIÇA JÚNIOR et al., 2013).

Os países que apresentam vários estudos relacionados à resistência a *Spodoptera* são os EUA, sobretudo os Estados do Mississipi e Geórgia, e o México,

onde diversos materiais foram identificados como portadores de genes para resistência à lagarta-do-cartucho (SILVEIRA; VENDRAMIM; ROSSETTO, 1997). Segundo Wiseman e Davis (1979), o primeiro genótipo com reconhecida resistência à lagarta-do-cartucho foi o Mp496, disponibilizado por Scott et al. (1977), com origem em Antigua 2D e obtido sob fortíssima pressão de seleção da praga.

Diversas cultivares de milho resistentes a *S. frugiperda* e a outras pragas foram registradas, onde destacam-se, como fontes de resistência os genótipos provenientes principalmente do grupo chamado Antigua, (WILLIAMS et al., 1997). Com resistência múltipla a várias espécies de Lepidoptera, podem ser citados os genótipos Antigua 2D-118, MpSWCB-4, Pio. X304C, Zapalote Chico 2451 e Mp 701 a 707, Zapalote Chico e TL 87-A- 1855-7 (VIANA; GAMA, 1988).

Diversos autores (VIANA; POTENZA, 2000; BOIÇA JÚNIOR; SANTOS; TOLEDO, 2005; LIMA et al. 2006; NOGUEIRA, 2015) avaliando as categorias de resistência antibiose e não preferência para alimentação e oviposição em diferentes genótipos de milho, observaram determinados genótipos de milho afetam significativamente o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

2. 4 Milho geneticamente modificado resistente a insetos

O gene de *B. thuringiensis* (Bt) foi introduzido em alguns genótipos de milho, dando origem à plantas geneticamente modificadas (GM), conferindo alto padrão de resistência da planta a algumas espécies de lepidópteros-praga (ARMSTRONG et al., 1995). Através da técnica do DNA recombinante foi possível utilizar genes de diferentes espécies de organismos para obtenção das plantas GM, também chamadas de transgênicas (NASCIMENTO et al., 2012).

Essa tecnologia foi lançada comercialmente nos EUA, em 1996, e vem sendo utilizada também em outros países. Atualmente, o milho Bt é a segunda planta transgênica mais cultivada no mundo, ocupando 32% da área global cultivada com transgênicos (CÉLERES, 2017). Na safra 2016/17 foram disponibilizadas 315 híbridos de milho, onde 68% do total apresentavam alguma tecnologia transgênica, principalmente voltada para o controle de pragas (PEREIRA FILHO; BORGHI, 2016).

O milho Bt codifica uma proteína tóxica (BOULDER, 1993) que, após ser ingerida pelo inseto, é solubilizada por proteinases do intestino e convertidas em uma combinação de até quatro toxinas menores. Essas toxinas hidrolisadas ligam-se com alta afinidade a receptores específicos, no intestino médio, interferindo no gradiente iônico e no balanço osmótico da membrana apical. Essa perturbação provoca a formação de poros que aumentam a permeabilidade de água na membrana celular. A captação de grande quantidade de água pelas células causa edema, eventual ruptura e desintegração do revestimento do intestino médio, levando o inseto à morte (COPPING; MENN, 2000).

A atividade entomopatogênica de *B. thuringiensis* deve-se à presença de uma inclusão cristalina produzida durante a esporulação (proteínas Cry e Cyt) e durante a fase vegetativa (proteínas Vip) (DE MAAGD et al., 2003). As protoxinas são ativadas quando processadas por proteases específicas no intestino do inseto. Ocorre então uma ligação irreversível nas células epiteliais levando à formação de poros que alteram a permeabilidade das células. Esta alteração leva à lise celular e ruptura da integridade intestinal, com consequente morte da larva (BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007).

As toxinas de Bt são expressas continuamente nos tecidos das plantas e apresentam alta especificidade para algumas pragas (SOBERÓN; GILL; BRAVO, 2009). Porém, Lourenção, Barros e Melo (2009) citam que a expressão da toxina pode variar de acordo com a parte da planta observada e com o híbrido. Os níveis de expressão da proteína Cry1Ab no evento MON810 foram avaliados em folhas jovens, grãos, planta toda e pólen. Os resultados observados evidenciaram maiores níveis de expressão nas folhas, seguidos pela planta toda, grãos e pólen, respectivamente.

O cultivo do milho Bt traz muitos benefícios, dentre eles estão a redução da aplicação de inseticidas e, conseqüentemente, menor exposição do trabalhador e do ambiente a esses produtos. A facilidade de logística nos tratos culturais, redução da infecção dos grãos por fungo e redução das perdas por dano causado pela infestação de insetos também são vantagens do uso dos transgênicos. Porém, o maior risco dessa tecnologia está na no seu mau uso, pois a não observação das

regras de refúgio pode levar à seleção de indivíduos resistentes, que não são mais sensíveis à tecnologia Bt (MENDES; WAQUIL, 2009).

Novas tecnologias estão sendo disponibilizadas aos produtores no intuito de diminuir os prejuízos ocasionados pelas pragas. No entanto, essas tecnologias possuem diferenças com relação à eficiência de controle da lagarta-do-cartucho (MICHELOTTO et al., 2013). Além disso, algumas tecnologias vêm apresentando problemas com relação à eficiência no controle destas pragas (FARIAS et al., 2014; OMOTO et al., 2016).

2.5 Resistência de pragas a toxinas Bt

Culturas transgênicas produtoras de toxinas de *B. thuringiensis* (Bt) são uma importante ferramenta no controle de pragas em diversos cultivos no mundo (LU et al, 2012). No entanto, a evolução da resistência às culturas Bt em várias espécies de pragas comprometeu alguns desses benefícios (TABASHNIK; BRÉVAULT; CARRIÈRE, 2013).

O conjunto de práticas utilizadas para reduzir o potencial de resistência das pragas, denominado Manejo de Resistência de Insetos (MRI), tem sido proposto para evitar ou retardar a seleção de indivíduos resistentes de modo a mantê-los em baixa frequência na população de insetos-praga (GOULD, 1998; HUANG; ANDOW; BUSCHMAN, 2011; HEAD; GREENPLATE, 2012).

A elevada pressão de seleção que a expressão contínua da(s) proteína(s) Bt nos tecidos das plantas exerce sobre as pragas-alvo é considerada um dos principais desafios do MRI (ANDOW, 2008). A evolução da resistência já foi relatada para *S. frugiperda* à proteína Cry1F em Porto Rico e no Brasil (STORER et al., 2010; FARIAS et al, 2014).

No Brasil, o sistema de cultivo de milho, algodão e soja Bt possibilita a exposição de populações de *S. frugiperda* à constante pressão de seleção dessas proteínas Bt, aumentando a possibilidade da rápida evolução de resistência. Outro fator que pode afetar a sustentabilidade dos eventos de milho Bt é a variação dos níveis de expressão das proteínas ao longo do desenvolvimento e entre estruturas da planta (HUANG; ANDOW; BUSCHMAN, 2011). Desse modo, a lagarta-do-

cartucho pode ser exposta a subdoses das proteínas inseticidas, favorecendo a sua sobrevivência e, conseqüentemente, a evolução da resistência (ANDOW, 2008).

A principal estratégia para evitar ou tornar a evolução da resistência mais lenta consiste na piramidação de genes, juntamente com a expressão de altas doses de proteínas inseticidas associada com a presença de áreas de refúgio (plantas não Bt) (BRAVO; SOBERÓN, 2008; HUANG; ANDOW; BUSCHMAN, 2011).

A piramidação de genes é empregada em plantas transgênicas para produzir duas ou mais toxinas Bt com diferentes modos de ação sobre a mesma praga-alvo (TABASHNIK; BRÉVAULT; CARRIÈRE, 2013). Há casos em que as plantas expressam mais de uma proteína, mas não atendem o conceito de evento piramidado, pois as proteínas apresentam resistência cruzada com outras proteínas Bt e/ou a expressão de uma das proteínas não exerce o controle adequado dos insetos (TABASHNIK; RENSBURG, CARRIÈRE, 2009; CARRIÈRE; CROWDER; TABASHNIK, 2010).

A estratégia de piramidação de genes somente é eficiente quando associada ao cultivo de áreas de refúgio (milho não Bt), pois a premissa básica da piramidação de genes é que as proteínas Bt serão expressas em quantidades suficientemente altas para causar recessividade funcional nos indivíduos heterozigotos, com isso possibilita-se o acasalamento dos possíveis indivíduos resistentes sobreviventes da área Bt com os indivíduos suscetíveis da área de refúgio, produzindo assim, progênies suscetíveis (GOULD, 1998; TABASHNIK; RENSBURG, CARRIÈRE, 2009).

A estratégia “alta dose/refúgio” tem demonstrado resultados eficazes na manutenção da suscetibilidade dos insetos-praga em cultivos Bt (ROSSI et al, 2016). Os híbridos que expressam toxinas em altas doses são os que expressam a proteína inseticida em concentração de pelo menos 25 vezes a que seria necessária para matar 99% de uma população suscetível de referência (TABASHNIK, 1994; CAPRIO; SUMMERFORD; SIMS, 2000). A combinação do uso de plantas com expressão de proteína Bt em alta dose com a adoção de áreas de refúgio não impede que a frequência dos alelos aumente, mas torna a evolução da resistência mais lenta (TABASHNIK, BRÉVAULT, CARRIÈRE, 2013).

3. Referências

AGRIANUAL. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2014. p. 348-377.

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

ARAÚJO, L.F.; SILVA, A.G.; CRUZ, I.; CARMO, E.L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M.M.P.; RATTES, J.F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico Bt. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.10, n.3, p.205-214, 2011.

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.F.; MORRISH, F.M.; PAJEAU, M.E.; PETERSON, 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.

BEADLE, G. W. Teosinte and the origin of maize. In: WALDEN, D. B. **Maize breeding and genetics**. New York: Jhon Wiley & Sons, v.8, 1978. p. 113-141.

BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pests. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v.32, p.156-173, 2000.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SANTOS, T. M.; TOLEDO, M. A. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 80, n. 2, p. 148-158, 2005.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; LOPES, G. L.; COSTA, E. N.; MORAES, R. F. O.; EDUARDO, W. I. Atualidades em resistência de plantas a insetos. In: BUSOLI, A. C.; ALENCAR, J. R. C. C.; FRAGA, D. F.; SOUZA, L. A.; SOUZA, B. H. S.; GRIGOLLI, J. F. J. **Tópicos em entomologia agrícola VI**. Jaboticabal: Gráfica e Editora Multipress, 2013. p. 207-224.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SOUZA, B. H. S.; COSTA, E. N.; MORAES, R. F. O.; EDUARDO, W. I.; RIBEIRO, Z. A. 2014. Resistência de plantas e produtos naturais e as implicações na interação inseto-planta. In: BUSOLI, A. C., SOUZA, L. A.; ALENCAR, J. R. C.; FRAGA, D. F.; GRIGOLLI, J. F. J. **Tópicos em entomologia agrícola VII**. Jaboticabal: Gráfica e Editora Multipress, 2014. p. 291-308.

BOULDER, D. Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops. **Phytochemistry**, Elmsford, v. 34, p. 1453-1466, 1993.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, Amsterdam, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.

BRAVO, A. SOBERÓN, M. How to cope with insect resistance to Bt toxins? **Trends in Biotechnology**, St. Louis, v.26, n. 10, p. 573-579, 2008.

BUCKLER, E. S.; STEVENS, N. M. Maize origins, domestication, and selection. In: MOTLET, T. J.; ZEREGA, N.; CROSS, H. (Eds.). **Darwin's harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops**. New York: Columbia University Press, 2006. p. 67–90.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; NORBERG, S. D. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1278-1283, 2004.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER A. D.; GARCIA M. S.; GIOLO F. P.; ZOTTI M. J; STEFANELLO JUNIOR G. J. Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 743-750, 2005.

CAMPOS, T.; CANÉCHIO FILHO, V. **Principais culturas II**. Campinas: I.C.E.A., 1987. 401 p.

CAPINERA, J. L. **Handbook of vegetable pests**. San Diego: Academic Press, 2002. 2700 p.

CAPRIO, M. A.; SUMMERFORD, D. V.; SIMS, S. R. Evaluating transgenic plants for suitability in pest and resistance management programs. In: LACEY, L.A.; KAYA, H.K. (Ed.). **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2000. cap. 8, p. 805-828.

CARVALHO, R. A.; OMOTO, C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; BASS, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One**, Berkeley, v.8, n. 4, p. e62268, 2013.

CARRIÈRE, Y.; CROWDER, D. W.; TABASHNIK, B. E. Evolutionary ecology of insect adaptation to Bt crops. **Evolutionary Applications**, New York, v.3, n.5, p. 561-573, 2010.

CASMUZ, A., JUÁREZ, M. L.; SOCÍAS, M. G.; MURÚA, M. G.; PRIETO, S.; MEDINA, S.; WILLINK, E.; GASTAMINZA, G. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, Mendoza, v. 69, n. 3-4, p. 209-231. 2010.

CÉLERES. **3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil**, safra 2016/17. 2017. Disponível em: <<http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-de-adoacao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201617/>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: décimo segundo levantamento**. Brasília: Conab, 2017. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/index.php/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/1317_3b92fdb4c81421e032d3de69c6243135>. Acesso em: 22 jan. 2018.

COMAS, C.; LUMBIERRES, B.; PONS, X.; ABAJES, R. No effects of *Bacillus thuringiensis* maize on nontarget organisms in the field in southern Europe: a meta-analysis of 26 arthropod taxa. **Transgenic Research**, London, v. 23, p. 135-143, 2013.

COPPING, L.G.; MENN, J.J. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, Sussex, v.56, n.8. p. 651-676, 2000.

COSTA SANTOS, F. M. **Capacidade de combinação de híbridos comerciais de milho visando à obtenção de híbridos de F2**. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2009.

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

CRUZ, I.; MONTEIRO, M. A. R. **Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. (Comunicado Técnico 98).

CRUZ, I.; VALICENTE, F. H.; SANTOS, J. P.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A. **Manual de identificação de pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA - CNPMS, 1997. 67 p.

CRUZ, I.; VALICENTE, F. H.; VIANA, P. A.; MENDES, S. M. **Risco potencial das pragas de milho e de sorgo no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 40 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 150).

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos**. Sete Lagoas: EMBRAPA CNPMS, 1999. 39 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica, 31).

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

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 311-316, 2001.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Piracicaba: Livro Ceres, 4.ed. 2004. 306p.

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, 150-158, 2014.

FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho. **Científica**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.197-202, 2006.

FERNANDES, O. A.; CARNEIRO, T. R. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* no Brasil. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Eds.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 75-82.

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, n.12, p.1693-1698, 2006.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do Milho**. Jaboticabal: Funep, 2007. 576 p.

GALINAT, W. C. The origin of corn. In: SPRAGUE, G. F. (Ed.) **Corn and corn improvement**. Madison: American Society of American of Agronomy. 1977. p.1-47.

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.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

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

HAMM, J. J.; WISEMAN, B. R. Plant resistance and nuclear polyhedrosis virus for suppression of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.69, p.541-549, 1986.

HEAD, G. P.; GREENPLATE, J. The design and implementation of insect resistance management program for Bt crops. **GM Crops & Food**, Philadelphia, v.3, p. 144-153, 2012.

HUANG, F.; ANDOW, D. A.; BUSCHMAN, L. L. Success of the high-dose/refuge resistance management strategy after 15 years of Bt crop use in North America. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 140, n. 1, p. 1-16, 2011.

ISAAA. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years**. ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca, NY. 2017.

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

LIMA, F. W. N.; OHASHI, O. S.; DE SOUZA, F. R. S.; GOMES, F. S. Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 147-150, 2006.

LOURENÇÃO, A. L. F.; BARROS, R.; MELO, E. P. Milho Bt: uso correto da tecnologia. In: **TECNOLOGIA e produção: milho safrinha e culturas de inverno**. 5. ed. Maracaju: Fundação MS, 2009. p.79-89. Disponível em: <<http://www.fundacaoms.org.br>>. Acesso em: 02 dez. 2017.

LU, Y; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y; DESNEUX, N. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, New York, v. 487, p. 362–365, 2012.

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).

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, 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.

NASCIMENTO, M. S.; VON PINHO, I. V.; CATELMO, N. F.; VON PINHO, E. V. R.; VON PINHO, R. G. Detecção de eventos transgênicos de milho através do teste de tiras imunocromatográficas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindoia. **Anais...** Águas de Lindoia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. p. 5.

NOGUEIRA, L. **Categorias e níveis de resistência de genótipos de milho crioulo a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2015. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2015.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, Sussex, v. 72, n. 9, p. 1727-1736, 2016.

PAINTER, R. H. **Insect Resistance in Crop Plants.** New York: Macmillan, 1951. 520 p.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil – uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.V.; DUARTE W. **Uma história brasileira do milho:** o valor dos recursos genéticos. Brasília: Paralelo 15, 2000. p.11-41.

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Mercado de sementes de milho no Brasil:** safra 2016/2017. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 28 p.

PETZOLD-MAXWELL, J. L.; SIEGFRIED, B.D.; HELLMICH, R. L.; ABEL, C. A.; COATES, B.S.; SPENCER, T. A.; GASSMANN, A. J. Effect of maize lines on larval fitness costs of Cry1F resistance in the european corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n. 2. p. 764-772, 2014.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Philadelphia, v.43, p.1-202, 2002.

POLANCZYK, R.A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith)**. 2004. 145f. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ROMEIS, J; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v.24, n.1, p.63-71, 2006.

ROSSI, G. D.; LEMOS, M. V. F.; CARVALHO, R. A.; DOURADO, P. M.; MARQUES, L. H. S. F.; FERNANDES, O. A. Plantas Bt: biossegurança e contribuições no manejo de insetos-praga. In: CASTILHO, R. C.; BUSOLI, A. C.; ANDRADE, D. J.; ROSSI, G. D.; DI BELLO, M. M.; BRENHA, J. A. M. **Tópicos em Entomologia Agrícola IX**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., 2016.

SÁ, V. G. M; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuide) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 6, p.108-115. 2009.

SANS, L. M. A.; GUIMARÃES, D. P. Época de plantio de milho. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho**. 6. ed. 2010. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/autores.htm>. Acesso em: 20 dez. 2017.

SCOTT, G. E.; DAVIS, F. M.; BELAND, G. L.; WILLIAMS, F. M.; KING, S. B. Host plant resistance is necessary for late planted corn. **Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station**, Mississippi State, v. 3, n. 13, 1977. 4p.

SILVEIRA, L. C. P.; VENDRAMIM; J. D.; ROSSETTO, C. J. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, p. 291-298, 1997.

SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 57, p. 309-328, 2012.

SOBERÓN M.; GILL, S. S.; BRAVO, A. Signaling versus punching hole: How do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells? **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 66, n. 8, p. 1337-1349, 2009.

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

STORER, N. P.; BABCOCK, J. M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G. D.; BING, J.W.; HUCKABA, R. M. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.103, n. 4, p.1031-1038, 2010.

TABASHNIK, B. E., BREVAULT, T.; CARRIERE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, New York, v. 31, p. 510-521, 2013.

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

TABASHNIK, B. E. RENSBURG, J. B. J. V.; CARRIÈRE, Y. Field-evolved insect resistance to Bt crops: definition, theory and data. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n.6, p. 2011-2025, 2009.

TOSCANO, L. C.; CALADO FILHO, G. C.; CARDOSO, A. M; MARUYAMA, W. I.; TOMQUELSKI, G. V. Impacto de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho safrinha cultivado em Cassilândia e Chapadão do Sul, MS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.2, p.223-231, 2012.

TSUNECHIRO, A.; OLIVEIRA, M. D. M.; FURLANETO, F. P. B.; DUARTE, A. P. Análise técnica e econômica dos sistemas de produção de milho safrinha, com alta e média tecnologia, região do Médio Paranapanema, Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 62-70, 2006.

USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Disponível em; <<https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf> 2018>. Acesso em 12 fev. 2018.

VIANA, P. A.; GAMA, E. E. G. Avaliação de genótipos de milho para a resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 17, 1988, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: ESALQ, 1988. p. 60.

VIANA, P. A.; POTENZA, M. R. Avaliação de antibiose e não-preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 27-33, 2000.

WAQUIL, J. M. **Manejo Fitossanitário e Ambiental**: Milho transgênico Bt e resistência das plantas ao ataque da lagarta-do-cartucho, 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/manfito/index.htm>. Acesso em: 12 jan. 2017.

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. & DAVIS, F. M. Plant resistance to the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 62, p. 123-130, 1979.

YU, S. J. Insensitivity of acetylcholinesterase in a field strain of the armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 84, p. 135-142, 2006.

YU, S. J.; MCCORD JR., E. Lack of cross-resistance to indoxacarb in insecticide-resistant *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 63, p. 63-67, 2007.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 77, n. 1, p. 1-11, Sept. 2003.

CAPÍTULO 2 – RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO CONVENCIONAL E TRANSGÊNICO A *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) EM CONDIÇÕES DE CAMPO

RESUMO – A utilização de híbridos de milho Bt para o controle de *Spodoptera frugiperda* vem crescendo a cada ano no Brasil. No entanto, a lagarta-do-cartucho apresenta um elevado potencial para evolução de resistência, tornando-se necessários estudos sobre a real eficácia de controle das tecnologias disponíveis no mercado. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar híbridos de milho contendo diferentes tecnologias transgênicas Bt no controle da lagarta do cartucho, em condições de campo. Cinco híbridos de milho Bt com as tecnologias Optimum™ Intrasect™ (Cry1F + Cry1Ab), Viptera 3® (Vip3Aa20), PowerCore™ (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F), VT Pro2™ (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e Herculex® (Cry1F), além de um híbrido não Bt (2B710), foram comparados num experimento, em campo, em blocos ao acaso com quatro repetições. Os resultados demonstraram que as tecnologias avaliadas apresentam diferentes desempenhos em relação ao controle de *S. frugiperda*. Através da análise visual de notas de injúria observou-se que os híbridos com as tecnologias Optimum™ Intrasect™ e Herculex®, apresentaram notas semelhantes ou muito próximas às notas do híbrido convencional testado, enquanto que a tecnologia Viptera® conferiu às plantas maior resistência ao ataque da praga.

Palavras-chave: *Zea mays*, lagarta-do-cartucho, *Bacillus thuringiensis*, manejo-de-pragas, resistência de plantas

RESISTANCE OF CONVENTIONAL AND TRANSGENIC MAIZE HYBRIDS *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) IN FIELD CONDITIONS

ABSTRACT – The use of Bt maize hybrids for the control of *Spodoptera frugiperda* has been growing every year in Brazil. However, the fall armyworm has a high potential for resistance evolution, making it necessary to study the real effectiveness of control of the technologies available in the market. In this way, the present research aimed to evaluate maize hybrids containing different Bt transgenic technologies in the control of the fall armyworm under field conditions. Five Bt maize hybrids with Optimum™ Intrasect™ (Cry 1F + Cry 1Ab), Viptera 3® (Vip3Aa20), PowerCore™ (Cry 1A.105 + Cry2Ab2 + Cry 1F), VT Pro2™ (Cry 1A.105 + Cry2Ab2) and Herculex® (Cry1F), and a non-Bt hybrid maize (2B710), were compared in a field experiment in a randomized block design with four replicates. The results demonstrated that the technologies evaluated have different performances in relation to the control of *S. frugiperda*. Through the visual analysis of damage notes, it was observed that the hybrids with the Optimum™ Intrasect™ and Herculex® technologies presented similar or statistically close notes to the notes of the conventional hybrid tested, while Viptera® technology gave the plants greater resistance to insect attack

Key-words: *Zea mays*, fall armyworm, *Bacillus thuringiensis*, pest management, plants resistance

1. Introdução

A cultura do milho está sujeita ao ataque de diversas pragas, dentre elas, a lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797), que vem causando expressivas perdas econômicas (GALLO, 2002; CONAB, 2016). A disponibilidade de alimento proporcionada pelo monocultivo em grande escala, aliados às condições climáticas favoráveis à praga, têm favorecido a sobrevivência de insetos, contribuindo para o aumento de sua densidade populacional em diferentes épocas do ano (WAQUIL; et al., 2002).

Para um controle eficiente, devem ser empregadas estratégias de manejo integrado, com a finalidade de obtenção de resultados econômicos e ecológicos favoráveis (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006). Uma das alternativas ao controle químico é a utilização de plantas transgênicas que expressam toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, conhecidas como plantas Bt. No Brasil, o primeiro evento de milho transgênico resistente a insetos foi aprovado em 2007. A partir disto, diversos eventos de milho expressando toxinas Bt foram liberados para comercialização, sendo atualmente 21 eventos aprovados para comercialização no país (CTNBio, 2016).

Além do benefício direto, diversas vantagens podem ser relacionadas ao cultivo do milho Bt, tais como redução no uso de inseticidas e no consumo de água, menor exposição do aplicador e dos inimigos naturais aos produtos tóxicos, facilidade de logística na realização dos tratamentos culturais da lavoura, redução nos riscos de contaminação do solo e da água, entre outras (MENDES et al, 2008).

Por outro lado, uma série de fatores pode reduzir a eficiência das plantas de milho Bt em manter a população de insetos-praga abaixo do nível de dano econômico e reduzir seus danos. O mais importante é a dose da toxina que os insetos recebem e a sua suscetibilidade a estas doses. Plantas de milho Bt produzem diferentes concentrações de toxina, dependendo da estrutura da planta e do evento de inserção do gene (CHILCUTT et al., 2007). Além disso, o atual sistema de produção agrícola do Brasil permite que haja sobreposição de cultivos de plantas Bt, expondo as populações de *S. frugiperda* a uma pressão de seleção constante às tecnologias Bt. Alguns casos de resistência de *S. frugiperda* a determinadas toxinas

foram relatados em Porto Rico (STORER et al., 2010), no sudeste dos EUA para a proteína Cry1F (HUANG et al., 2014) e no Brasil para Cry1F e Cry1Ab (FARIAS et al., 2014; OMOTO et al., 2016).

Diante do potencial de evolução de resistência da lagarta-do-cartucho às toxinas Bt, o objetivo do trabalho foi verificar os as injúrias de *S. frugiperda* em híbridos de milho convencional e transgênicos, em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura.

2. Material e métodos

O experimento foi realizado em área experimental do Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia do Triângulo Mineiro – IFTM, Campus Uberlândia, em um Latossolo Vermelho distrófico e com textura argilosa. A área experimental está localizada à 18°50'25,52" S e 48°14'54,04" O, com altitude de 835 m e classificação climática Aw, segundo Köppen (1948).

A semeadura do milho foi realizada em 27/11/2015, manualmente, em sistema de plantio convencional, ocorrendo a germinação após sete dias. Foi adotado o delineamento de blocos casualizados com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas experimentais. Cada parcela foi constituída de 10 linhas de 6 m de comprimento e 0,9 m de espaçamento entre linhas, sendo duas linhas de cada parcela semeadas com o híbrido não Bt para compor o refúgio, e oito linhas semeadas com os híbridos dos diferentes tratamentos. Ao entorno dos experimentos, foi realizada a semeadura de milho convencional, com o intuito de estas áreas servirem como áreas de refúgio, como recomendado pelas empresas, em torno de 20% da área.

Foram avaliados seis híbridos comerciais, os transgênicos 30F35YH (Du Pont Pioneer), Impacto (Syngenta), 2B587PW (Dow Agrosiences), DKB 390 PRO2 (Monsanto), 2B285HX (DuPont Pioneer), e o não Bt 2B710 (Dow Agrosiences). Os híbridos foram selecionados em função das diferentes tecnologias e proteínas inseticidas para o controle de *S. frugiperda* (Tabela 1).

Tabela 1. Híbridos de milho Bt e não Bt utilizados no experimento. Uberlândia - MG, 2015/2016.

Híbridos	Tecnologias	Eventos	Proteínas Bt
30F35YH	Optimum TM Instrasect TM	TC1507+MON810	Cry1F + Cry1Ab
Impacto	Viptera 3 [®]	MIR162	VIP3Aa20
2B587PW	PowerCore TM	MON89034+TC1507	Cry1A.105 + Cry 2Ab2 + Cry1F
DKB390Pro2	Vt Pro2 TM	MON89034	Cry1A.105 + Cry2Ab2
2B285HX	Herculex [®]	TC1507	Cry1F
2B710	2B710 (Não Bt)	-	-

A avaliação das injúrias ocasionadas pela lagarta-do-cartucho foi realizada semanalmente, no período de 7, 14, 21 e 28 dias após a emergência (DAE) com amostragem de 30 plantas por parcela, verificando a intensidade de injúrias causadas às folhas das plantas através de uma escala visual de notas de 0 a 9 proposta por Davis, Ng e Williams (1992) (Tabela 2). A avaliação foi realizada nas linhas de semeadura dos tratamentos, excluindo-se o refúgio.

Para o estudo da infestação de lagartas, foram selecionadas 10 plantas ao acaso por parcela, onde foram arrancadas e inspecionadas, retirando-se as folhas individualmente até chegar ao cartucho. As lagartas encontradas foram classificadas em pequenas (<15 mm) e grandes (>15 mm). Foram realizadas duas avaliações, aos 14 e 28 DAE.

Os dados foram submetidos ao teste de Levene ($\alpha = 0,05$) para observação da homocedasticidade das variâncias e os resíduos “studentizados” de cada variável foram submetidos ao teste de normalidade de Cramér-von Mises ($\alpha = 0,05$). Foram realizadas também as análises de resíduos para identificação de valores “outliers” ou influentes; quando não atendidas essas pressuposições, os dados foram transformados de acordo com o teste de Box-Cox e submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando significativo ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Todos os testes estatísticos foram realizados com auxílio do software SAS 9.3 (SAS INSTITUTE, 2002). Os parâmetros que não atenderam às pressuposições de homogeneidade das variâncias e/ou normalidade

dos resíduos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e, quando significativo ($p < 0,05$), as médias comparadas pelo teste de Dunns ($\alpha = 0,05$) no software GraphPad Prism 4.

Tabela 2. Escala de nota (0 a 9) utilizada para avaliação de injúrias de *Spodoptera frugiperda* nas plantas de milho.¹

Nota	Descrição
0	Planta sem injúria.
1	Planta com pontuações (mais que uma pontuação por planta).
2	Planta com pontuações; 1 a 3 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm).
3	Planta com 1 a 5 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm); mais 1 a 3 lesões alongadas (até 1,5 cm).
4	Planta com 1 a 5 lesões circulares pequenas (até 1,5 cm); mais 1 a 3 lesões alongadas (maiores que 1,5 cm e menores que 3 cm).
5	Planta com 1 a 3 lesões alongadas grandes (maior que 3 cm) em 1 a 2 folhas; mais 1 a 5 furos ou lesões alongadas até 1,5 cm.
6	Planta com 1 a 3 lesões alongadas grandes (maior que 3 cm) em 2 ou mais folhas; mais 1 a 3 furos grandes (maior que 1,5 cm) em 2 ou mais folhas
7	Planta com 3 a 5 lesões alongadas grandes (maior que 3,5 cm) em 2 ou mais folhas; mais 3 a 5 furos grandes (maior que 1,5 cm) em 2 ou mais folhas.
8	Planta com muitas lesões alongadas (mais que 5) de todos os tamanhos na maioria das folhas. Muitos furos médios a grandes (mais que 5) maiores que 3 cm em muitas folhas.
9	Plantas com muitas folhas, na quase totalidade, destruídas.

¹ Davis; Ng e Williamns. (1992).

3. Resultados e discussão

As maiores notas de injúrias foliares, de modo geral, foram verificadas no híbrido não Bt, e nos transgênicos com as tecnologias Herculex[®] (Cry1F) e Optimum[™] Intrasect[™] (Cry1F + Cry1Ab). Estes híbridos apresentaram desde plantas com o cartucho parcialmente destruído a plantas com o cartucho totalmente destruído, comportando-se como suscetíveis à praga (Tabela 3). Esses resultados foram semelhantes aos de Michelotto et.al. (2015), que, ao avaliarem a evolução híbridos que expressam as proteínas Cry1F e Cry1Ab, constataram que os primeiros híbridos transgênicos comercializados no Brasil perderam rapidamente a eficiência

no controle da lagarta-do-cartucho. Farias et al. (2014) avaliando a base genética da resistência de populações de *S. frugiperda* resistente a Cry1F de diferentes regiões do Brasil constataram dificuldades no controle de *S. frugiperda* através dos híbridos de milho Bt contendo a proteína Cry1F, além de documentar resistência em uma população do inseto no Oeste da Bahia (BA25R).

As menores notas de injúria observadas no híbrido Viptera 3[®] referem-se aos sintomas de do comportamento inicial de alimentação das lagartas (“raspagem de folha”), portanto esse híbrido suprimiu as lagartas da praga, logo no primeiro ou segundo instar larval, e com isso, as plantas apresentaram poucas desfolha (Tabela 3).

Crossariol Netto (2017) avaliando o comportamento de cultivares Bt em diferentes regiões do estado de São Paulo também constatou menores médias de notas atribuídas aos sintomas de ataque de *S. frugiperda* no híbrido transgênico Impacto Vip3.

Dantas et al. (2016), monitorando a ocorrência da lagarta-do-cartucho em milho Bt expressando diferentes proteínas constataram que o inseto ocorreu mais frequentemente nos híbridos Herculex[®] e Impacto TL[®], e menos frequentemente no Impacto Viptera 3[®], demonstrando a ocorrência de possíveis lagartas resistentes à atividade inseticida dos híbridos de milho Bt.

Tabela 3. Médias de notas de danos de ataque de *Spodoptera frugiperda* em quatro épocas de avaliação em híbridos de milho. Uberlândia, 2015/2016.

Tecnologias	Dias após Emergência (DAE)			
	7	14	21	28
Optimum [™] Intrasect [™]	1,64 ± 0,10 b	4,44 ± 0,23 a	3,74 ± 0,32 b	2,82 ± 0,14 c
Viptera 3 [®]	0,04 ± 0,01 d	0,24 ± 0,03 c	1,04 ± 0,08 d	1,13 ± 0,12 d
PowerCore [™]	0,55 ± 0,15 c	2,93 ± 0,04 b	2,40 ± 0,16 c	2,45 ± 0,13 c
Vt Pro2 [™]	0,80 ± 0,01 c	2,34 ± 0,05 b	2,62 ± 0,09 c	2,36 ± 0,14 c
Herculex [®]	1,83 ± 0,06 ab	3,97 ± 0,06 a	4,30 ± 0,14 ab	4,47 ± 0,15 b
2B710 (Não Bt)	2,14 ± 0,14 a	4,32 ± 0,07 a	4,84 ± 0,19 a	5,33 ± 0,16 a

Médias ± erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os resultados obtidos para o número de lagartas demonstraram que houve diferença significativa entre os tratamentos, ocorrendo menor sobrevivência de lagartas no híbrido Viptera 3[®]. Na avaliação realizada aos 14 DAE, observou-se que o número médio de lagartas pequenas (<15mm) encontradas no cartucho das plantas foi semelhante entre os híbridos de milho transgênicos, exceto para Viptera 3[®]. Em contrapartida, o número médio de lagartas grandes (> 15mm) foi maior no híbrido convencional, seguido pelos híbridos Herculex[®], Optimum[™] Intrasect[™] e VT Pro2[™], indicando a sobrevivência e desenvolvimento do inseto nesses híbridos. Aos 21 DAE, houve maior infestação de lagartas pequenas nos híbridos de tecnologia Viptera 3[®]. Entretanto, não foram encontradas lagartas grandes, indicando assim a suscetibilidade de lagartas menores à toxina Vip3Aa20. O número de lagartas grandes nos híbridos Herculex[®], Optimum[™] Intrasect[™] e PowerCore[™] foram semelhantes aos encontrados no híbrido não Bt. (Tabela 4).

Tabela 4. Médias do número de lagartas pequenas (<15 mm) e grandes (>15 mm) de *Spodoptera frugiperda* em duas avaliações em híbridos de milho. Uberlândia, 2015/2016.

Tecnologias	14 DAE ¹		21 DAE	
	Lagartas < 15 mm	Lagartas >15 mm	Lagartas < 15 mm	Lagartas >15 mm
Optimum [™] Intrasect [™]	0,85 ± 0,05 a	0,35 ± 0,03 ab	0,28 ± 0,03 b	0,93 ± 0,05 ab
Viptera 3 [®]	0,40 ± 0,07 b	0,00 ± 0,00 b	1,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 c
PowerCore [™]	0,95 ± 0,06 a	0,10 ± 0,01 b	0,28 ± 0,09 b	0,93 ± 0,05 ab
Vt Pro2 [™]	0,78 ± 0,05 a	0,30 ± 0,02 ab	0,28 ± 0,10 b	0,85 ± 0,06 b
Herculex [®]	0,70 ± 0,08 a	0,50 ± 0,03 ab	0,38 ± 0,05 b	1,05 ± 0,03 ab
2B710 (Não Bt)	0,38 ± 0,05 b	0,95 ± 0,04 a	0,30 ± 0,12 b	1,10 ± 0,07 a

Médias \pm erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹DAE = dias após a emergência.

Siebert et al. (2012), avaliando a eficiência de controle de *S. frugiperda* em campo, verificaram que os híbridos com múltiplas proteínas Bt, isto é, piramidados, apresentaram menor número de lagartas e injúria nas folhas. Em trabalho similar, Rule et al. (2014) infestaram artificialmente plantas de milho com *S. frugiperda* e concluíram que os híbridos com eventos Bt, piramidados ou individuais, sofreram menor ataque de lagartas nas folhas do que os não Bt. O uso de eventos

piramidados retarda a evolução da resistência às proteínas Bt e promove melhor controle de pragas do que os eventos individuais (STORER et al., 2012; NIU et al., 2014).

4. Conclusões

O híbrido com tecnologia Viptera 3[®] é o mais efetivo na supressão de lagartas de *S. frugiperda*.

Dentre as tecnologias, os híbridos que expressam as proteínas inseticida Cry1F e Cry1Ab, sozinhas ou associadas, são os mais suscetíveis frente ao ataque de *S. frugiperda* em condições de campo.

5. Referências

CHILCUTT, C. F.; ODVODY, G. N.; CORREA, J. C. REMMERS, J. Effects of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn on corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) densities. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 100, n. 2, p. 327-334, 2007.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos: Oitavo levantamento, Safra 2015/16**. Brasília: Conab, 2016. p. 178.

CROSARIOL NETTO, J. **Efeito de proteínas Cry e VIP nos parâmetros biológicos de populações de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) e injúrias nas plantas de milho por lepidópteros**. 2017. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2017.

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 out. 2016.

DANTAS, C. L.; OLIVEIRA, C. R.; PAIVA, P. M.; VALICENTE, F.H. Monitoramento da *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho Bt. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2016, Bento Gonçalves. **Anais...** Sete Lagoas: ABMS, 2016.

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

FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho. **Científica**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.197-202, 2006.

FARIAS, J.R.; HORIKOSHI, R. J.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Geographical and temporal variability in susceptibility to Cry1F toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n.6, p. 2182-2189, 2014.

GALLO, D. N., O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ. p. 919. 2002.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER JR, R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; NI, X.; KERNS, D.; BUNTIN, D.; NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. **PLoS One**, Berkeley, v.9, n.11, p. e112958, 2014.

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.

MICHELOTTO, M. D.; DUARTE, A. P.; FREITAS, R. S., SOUZA, T.M.; FINOTO, E. L, CROSARIOL NETTO. J. Evolução no controle da lagarta-do-cartucho em milho safrinha com o uso de híbridos Bt. In: SEMINARIO NACIONAL MILHO SAFRINHA, 8., Maringá, 2015. **Anais...** Sete Lagoas: ABMS, 2015.

NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V.; HUANG, F. Larval survival and plant injury of Cry1F-susceptible, -resistant, and -heterozygous fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt corn containing single or pyramided genes. **Crop Protection**, Guildford, v. 59, p. 22-28, 2014.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, Sussex, v.72, n. 9, p. 1727-36, 2016.

RULE, D. M.; NOLTING, S. P.; PRASIFKA, P. L.; STORER, N. P.; HOPKINS, B. W.; SCHERDER, E. F.; SIEBERT, M. W.; HENDRIX, W. H. Efficacy of pyramided Bt proteins Cry1F, Cry1A.105, and Cry2Ab2 expressed in SmartStax corn hybrids against 31 lepidopteran insect pests in the northern United States. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 107, p. 403-409, 2014.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user software**: Changes and 14 enhancements through release. Cary, NC: Sas Institute, 2011.

SIEBERT, M. W.; NOLTING, S. P.; HENDRIX, W.; DHAVALA, S.; CRAIG, C.; LEONARD, B. R.; STEWART, S. D.; ALL, J.; MUSSER, F. R.; BUNTIN, G. D.; SAMUEL, L. Evaluation of corn hybrids expressing Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry34Ab1/Cry35Ab1, and Cry3Bb1 against southern United States insect pests. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 105, p. 1825-1834, 2012.

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

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

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

CAPÍTULO 3 – EFEITO DE DIFERENTES HÍBRIDOS DE MILHO NO DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo - O objetivo foi avaliar os efeitos antibióticos dos híbridos de milho Bt utilizados comercialmente no Brasil na lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). Os experimentos foram conduzidos com lagartas de primeiro e terceiro instares alimentadas com folhas de milho Bt e não Bt. As seguintes variáveis foram analisadas: tempo de sobrevivência em lagartas de primeiro instar; duração das fases larval e pupal, peso de lagartas aos 14 dias de idade, viabilidades larvais aos 14 dias e da fase, viabilidade pupal, peso de pupas com 24 horas de idade, porcentagem de pupas e adultos deformados, razão sexual, longevidade dos adultos e duração do ciclo. As principais variáveis biológicas de *S. frugiperda*, como período larval, peso de pupas e longevidade de adultos foram afetadas pela idade da lagarta exposta ao híbrido transgênico, pela idade da planta e pela proteína inseticida expressa pela planta de milho Bt. Todas as tecnologias avaliadas apresentam alta eficiência de controle para lagartas de primeiro instar de *S. frugiperda*. As lagartas de primeiro instar são mais suscetíveis que as lagartas de terceiro aos efeitos das toxinas Bt, independente da tecnologia. Lagartas de terceiro instar alimentadas com híbridos de milho com as tecnologias PowerCore™, Herculex® e Optimum™ Intrasect™ têm desenvolvimento similar às lagartas alimentadas com milho não Bt.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho. *Zea mays*. Antibiose. Manejo de resistência de insetos.

EFFECT OF DIFFERENT MAIZE HYBRIDS IN THE DEVELOPMENT OF THE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Abstract - The objective was to evaluate the antibiotic effects of the commercially Bt maize hybrids in Brazil, to fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). The experiments were carried out with first and third instar caterpillar fed with Bt and non-Bt maize leaves. The following variables were analyzed: survival time in first instar caterpillars; duration of larval and pupal stages, larvae weight at 14 days, viability larvae at 14 days and the stage, pupal viability, pupae weight at 24 hours of age, percentage of deformed pupa and adults, sexual ratio, longevity of adults and duration of the cycle. The main biological variables of *S. frugiperda*, such as larval period, pupal weight and adult longevity, are affected by the size of the caterpillar exposed to the transgenic hybrid, by the age of the plant and by the insecticidal protein expressed by the Bt maize plant. All the technologies evaluated have high control efficiency for first instar caterpillars of *S. frugiperda*. The first instar caterpillars are more susceptible than third instar to the Bt-toxin, regardless of technology. The third instar caterpillars that were fed maize with PowerCore™, Herculex® and Optimum™ Intrasect™ technologies have a similar development to caterpillars that were fed with non-Bt maize.

Keywords: Fall armyworm, *Zea mays*, Antibiosis, Insect Resistance Management.

1. Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das mais importantes culturas no contexto econômico e social no mundo. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais, ocupando a terceira posição, totalizando 97 milhões de toneladas na safra 2016/17 (USDA, 2017). A produtividade média brasileira de milho, somando-se as duas safras, ainda é relativamente menor comparada aos principais produtores mundiais (CONAB, 2017). Um dos fatores responsáveis pela redução na produtividade é o ataque de pragas.

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) é considerada um dos principais insetos-praga da cultura no Brasil, podendo reduzir a produção em até 52% (VALICENTE, 2015). Normalmente são utilizados inseticidas para o seu manejo, porém o uso frequente destes produtos pode provocar o surgimento de populações de insetos resistentes, bem como causar severos danos ao meio ambiente (ROEL; VENDRAMIN, 2006). O uso da biotecnologia se tornou uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas da cultura do milho por permitir a redução do uso de inseticidas, diminuindo assim, os custos e riscos de perdas na produção (CARPENTER, 2010).

O uso do milho geneticamente modificado que expressa proteínas inseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) tem sido uma das principais táticas do manejo de insetos-praga (TABASHNIK; BRÉVAULT; CARRIÈRE, 2013). As toxinas são altamente específicas e reagem com certos receptores encontrados no intestino do inseto, resultando em sua morte (BRAVO; SOBERÓN, 2008). Entretanto, a evolução da resistência nas populações de *S. frugiperda* vem sendo a principal ameaça à sustentabilidade dos híbridos de milho Bt.

No sistema de produção agrícola brasileiro, ocorre a sobreposição do cultivo de plantas Bt, que pode estar contribuindo para a evolução da resistência em populações da lagarta-do-cartucho (BERNARDI et al., 2015). As estratégias de manejo de resistência denominadas "alta dose/refúgio", e a "piramidação de genes", técnica de desenvolvimento de híbridos Bt que expressam mais de uma proteína na

planta, têm como objetivo prevenir ou atrasar a evolução da resistência (OMOTO et al., 2016).

A expressão em alta dose da proteína Bt tem como objetivo garantir que a concentração de uma determinada proteína expressa na planta geneticamente modificada seja eficiente no controle dos descendentes resultantes do cruzamento dos indivíduos resistentes, provenientes da área de milho Bt, com indivíduos suscetíveis, provenientes da área de refúgio (OMOTO et al., 2016). Nesse contexto, o refúgio consiste no plantio de um híbrido não Bt, de ciclo vegetativo similar ao da área cultivada com plantas Bt, para que a praga não seja exposta à alta pressão de seleção e sejam produzidos indivíduos suscetíveis (ANDOW, 2008)

Foram relatados casos de resistência da lagarta-do-cartucho em Porto Rico (STORER et al., 2010) e no sudeste dos EUA (HUANG et al., 2014) para a proteína Cry1F e no Brasil para Cry1F e Cry1Ab (FARIAS et al., 2014a; OMOTO et al., 2016). O fenótipo de resistência nessas populações foi conferido por um ou mais alelos recessivos no mesmo local e a frequência de alelos resistentes aumentou significativamente no campo durante os últimos anos (MONNERAT et al., 2015). Estudos realizados em laboratório também indicaram a resistência da lagarta ao milho YieldGard VT PRO™, que expressa Cry1A.105 + Cry2Ab2 (SANTOS-AMAYA et al., 2015); ao PowerCore™, que expressa Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F (BERNARDI, 2015); e ao Viptera® e Viptera 3®, que expressam Vip3Aa20 e Vip3Aa20 + Cry1Ab (BERNARDI et al., 2016).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos dos diferentes híbridos de milho convencional e transgênicos no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho.

2. Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Fitossanidade, no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Os insetos utilizados no experimento foram provenientes da criação de manutenção do laboratório, onde foram mantidos em sala climatizada com temperatura de 25±1°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12 horas.

Para obtenção do material vegetal, foram colocadas sementes dos diferentes híbridos de milho transgênico (milho Bt) e convencional (não Bt) em vasos de polietileno, contendo substrato à base de solo, areia e composto orgânico, na proporção de 2:1:1. Os híbridos utilizados no experimento estão discriminados na Tabela 1. Os vasos foram dispostos aleatoriamente em casa de vegetação, sendo a umidade do substrato mantida por meio de irrigações diárias. O desbaste das plantas foi realizado seis dias após a emergência (DAE), deixando-se quatro plantas por vaso.

Tabela 1. Híbridos de milho Bt e não Bt utilizados para alimentação das lagartas de primeiro e terceiro ínstares de *Spodoptera frugiperda*.

Híbridos	Tecnologias	Eventos	Proteínas Bt
DKB390Pro2	VT PRO2™	MON89034	Cry 1A.105 + Cry2Ab2
30F53VYHR	Leptra®	MON810+TC1507+MIR162	Cry1Ab+ Cry1F + Vip3Aa20
Impacto	Viptera 3®	MIR 162	VIP3Aa20
2B587PW	PowerCore™	MON89034+TC1507	Cry 1A.105 + Cry 2Ab2 + Cry 1F
2B285HX	Herculex®	TC1507	Cry1F
30F35 YH	Optimum™ Intrasect™	TC1507+MON 810	Cry1F +Cry 1Ab
2B587	Não Bt	-	-

Para avaliação do desenvolvimento das lagartas de primeiro ínstar foi realizado um bioensaio em delineamento inteiramente casualizado, com 100 repetições. As parcelas foram constituídas por recipientes de plástico transparente com tampa (100 mL), forrados com papel filtro umedecido com água deionizada, onde foi colocada uma seção foliar de 5 cm de comprimento com largura natural da folha de cada tratamento. Foram realizados dois experimentos, um utilizando folhas retiradas do cartucho de plantas nos estádios V3 e V6. As lagartas foram avaliadas diariamente, observando-se o período de sobrevivência, e permaneceram no recipiente até completarem o ciclo, sendo a seção foliar substituída diariamente.

Para estudar o desenvolvimento das lagartas de terceiro ínstar nos diferentes híbridos, foi realizado um bioensaio em delineamento inteiramente casualizado, com

40 repetições. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976) até atingirem o terceiro ínstar, quando foram individualizadas nos recipientes plásticos e oferecidas a elas seções de folhas dos híbridos. As seções foliares dos tratamentos foram oferecidas “ad libidum” e trocadas sempre que necessário. Também foram avaliados os efeitos das duas idades das plantas no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho.

No experimento com lagartas de terceiro ínstar foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: duração das fases larval e pupal, peso de lagartas aos 14 dias de idade, viabilidades larvais aos 14 dias e da fase larval, viabilidade pupal, peso de pupas com 24 horas de idade, porcentagem de pupas e adultos deformados, razão sexual, longevidade dos adultos e duração do ciclo (da eclosão das lagartas à emergência dos adultos).

Os dados obtidos foram submetidos à análise exploratória para observação da homocedasticidade das variâncias pelo teste de Levene e os resíduos estudentizados de cada variável foram submetidos ao teste de Cramer Von Mises, para verificar se os dados apresentaram distribuição normal. Quando não atendidos foram transformados de acordo com o teste de Box-Cox, e quando atendidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Adotou-se o nível de significância de 5%, sendo realizadas as análises pelo software SAS[®] 9.3 (SAS, 2011).

3. Resultados e discussão

As lagartas de primeiro ínstar foram suscetíveis às toxinas presentes nas folhas dos diferentes híbridos transgênicos avaliados. A idade da planta não influenciou no tempo de sobrevivência, porém, houve diferença entre os híbridos avaliados, onde foi observado um período significativamente maior para o híbrido não Bt. ($F = 118,29$; g.l. = 6, 56; $P < 0,0001$) (Tabela 2).

Tabela 2. Média (\pm EP) do período de sobrevivência larval (dias) das lagartas de primeiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt.

Estádios fenológicos	Período de sobrevivência das lagartas
V3	5,66 \pm 1,25 a
V6	5,61 \pm 1,24 a
Tecnologias	
VT Pro2 TM	2,77 \pm 0,05 bc
Leptra [®]	2,48 \pm 0,04 a
Viptera 3 [®]	2,59 \pm 0,52 ab
PowerCore TM	2,62 \pm 0,07 ab
Herculex [®]	2,97 \pm 0,09 c
Optimum TM Intrasect TM	2,60 \pm 0,07 ab
Não Bt	23,41 \pm 0,42 d

Médias \pm erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Bernardi (2015) também verificou mortalidade de 100% de lagartas neonatas de *S. frugiperda* em discos de folha de milho VT PROTM (Cry1A.105 + Cry2Ab2) e PowerCore (Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F).

Houve interação significativa entre a idade da planta e os híbridos avaliados, onde as lagartas de primeiro ínstar alimentadas com PowerCoreTM e Herculex[®] com 15 DAE apresentaram tempo de sobrevivência significativamente maior ($F = 23,96$; g.l. = 1,56; $P < 0,0001$) (Tabela 3). De acordo com Dutton, Romeis e Bigler (2003), a expressão de toxinas Bt é desconhecida em variedades comercialmente disponíveis. A expressão constitutiva de toxinas Bt (expressão igual em todos os tecidos da planta) tem sido questionada (VAN WYK; VAN DER BERG; RENSBURG, 2009).

Constatou-se que o menor tempo de sobrevivência foi observado aos 15 dias para Leptra[®], e aos 30 dias para Leptra[®], PowerCoreTM e OptimumTM IntrasectTM, sugerindo uma eficiência maior e rápida nestas tecnologias.

Tabela 3. Interação entre estágio fenológico e tecnologias para o tempo de sobrevivência de lagartas de primeiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*.

Tecnologias	Estádios fenológicos	
	V3	V6
VT PRO2 TM	2,69 ± 0,06 abA	2,84 ± 0,08 bA
Leptra [®]	2,51 ± 0,08 aA	2,44 ± 0,03 aA
Viptera 3 [®]	2,54 ± 0,06 abA	2,63 ± 0,08 abA
PowerCore TM	2,82 ± 0,04 bB	2,42 ± 0,04 aA
Herculex [®]	2,82 ± 0,11 bA	3,12 ± 0,11 cB
Optimum TM Intrasect TM	2,76 ± 0,06 abB	2,44 ± 0,05 aA
Não Bt	23,45 ± 0,57 cA	23,38 ± 0,67 dA

Médias \pm erro-padrão com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Todas as lagartas de terceiro ínstar que foram alimentadas com seções das folhas do milho Bt com tecnologia Leptra[®] morreram antes de completarem o período da fase larval (Tabela 4). As lagartas que foram alimentadas com os híbridos com 15 e 30 DAE apresentaram diferença significativa na média de biomassa larval aos 14 dias após a eclosão ($F = 12,34$; g.l. 1,52; $P = 0,0009$). De acordo com Huang et al. (2011), o nível de expressão das proteínas ao longo do desenvolvimento das estruturas pode afetar a eficiência das tecnologias Bt. Andow (2008) relatou que essas oscilações associadas à elevada polifagia de *S. frugiperda* pode expor a praga a subdoses das proteínas Bt, favorecendo a sobrevivência dos insetos, e conseqüentemente, a evolução da resistência.

O peso médio das larvas alimentadas com os híbridos Bt foi significativamente reduzido em comparação ao peso no milho não Bt, porém, os híbridos com tecnologia PowerCoreTM Herculex[®] e OptimumTM IntrasectTM apresentaram médias de peso larval próximas às obtidas para o milho não Bt (Tabela 4). A redução do peso seria resultante do menor consumo foliar, fato importante para o manejo da lagarta-do-cartucho, pois com menor peso e consumo alimentar haveria conseqüentemente menor injúria do inseto à planta e conseqüentemente na produção (MENDES et al., 2011). Bernardi (2015) também

verificou que o peso larval em milho VT PROTM foi similar àquele observado para as larvas alimentadas com a isolinha não Bt. As diferenças significativas na suscetibilidade a Cry1A.105 podem estar associadas ao sistema de cultivo intensivo de híbridos de milho que expressam a proteína Cry1F, acarretando o surgimento de populações de *S. frugiperda* resistentes à proteína Cry1F com sobrevivência larval superior a 50% (FARIAS et al. 2014b).

Tabela 4. Média (\pm EP) do peso larval aos 14 dias de idade (g), período da fase larval (dias), viabilidades larval aos 14 dias de idade (%) e da fase (%) de *Spodoptera frugiperda* de terceiro ínstar alimentadas com folhas de híbridos Bt e não Bt

Estádios fenológicos	Peso larval (g)	Período larval (dias)	Viabilidade aos 14 dias (%)	Viabilidade da fase larval (%)
V3	0,23 \pm 0,02 b	16,10 \pm 0,20 a	94,00 \pm 1,63 a	82,93 \pm 3,31 a
V6	0,19 \pm 0,02 a	16,64 \pm 0,17 a	96,43 \pm 1,91 a	75,45 \pm 5,32 a
Tecnologias				
VT PRO2 TM	0,21 \pm 0,20 b	17,47 \pm 0,28 b	98,75 \pm 1,25 a	72,50 \pm 7,16 b
Leptra [®]	0,05 \pm 0,01 a	- ¹	-	-
Viptera 3 [®]	0,10 \pm 0,02 a	18,00 \pm 0,00 b	100,00 \pm 0,00 a	12,50 \pm 0,00 a
PowerCore TM	0,26 \pm 0,02 bc	15,96 \pm 0,24 a	88,75 \pm 5,09 a	72,38 \pm 4,72 b
Herculex [®]	0,28 \pm 0,02 bc	15,86 \pm 0,19 a	98,75 \pm 1,25 a	87,32 \pm 3,73 bc
Optimum TM				
Instrasect TM	0,28 \pm 0,02 bc	16,20 \pm 0,21 a	92,5 \pm 2,76 a	85,12 \pm 4,69 bc
Não Bt	0,33 \pm 0,02c	15,85 \pm 0,23 a	96,25 \pm 1,91 a	97,50 \pm 1,67 c

Médias \pm erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Todas as lagartas deste tratamento morreram (variância nula).

O período larval foi significativamente maior nos tratamentos VT PRO 2TM e Viptera 3[®], sendo os demais com valores médios semelhantes ao obtido para as lagartas alimentadas com milho não Bt ($F = 8,51$; g.l. = 5,42; $P < 0,0001$). Dutton, Romeis e Bigler (2005) encontraram um prolongamento do período de desenvolvimento de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) quando larvas foram mantidas em milho Bt, demonstrando que a exposição contínua à toxina tem efeito crônico sobre a espécie.

Os híbridos de milho não diferiram entre si em relação à viabilidade de lagartas aos 14 dias de idade, porém, na viabilidade total da fase larval (Tabela 4) a viabilidade daquelas alimentadas com Viptera 3[®] foi significativamente menor em relação aos demais ($F = 16,52$; g.l. = 5;42. $P < 0,0001$).

Foi observada diferença significativa no peso de pupas oriundas de larvas alimentadas com folhas de milho Bt, tendo sido menor nos insetos desenvolvidos em Viptera 3[®] ($F = 15,99$; g.l. = 5,42; $P < 0,0001$). Os híbridos com tecnologia PowerCore[™] e Optimum[™] Instrasect[™] originaram pupas com valor médio de biomassa semelhante ao apresentado no milho não Bt (Tabela 5).

Tabela 5. Média (\pm EP) do peso de pupas com 24 horas de idade (g), período pupal (dias), viabilidade da fase pupal (%) e deformação de pupas (%) de *Spodoptera frugiperda* oriundas das lagartas de terceiro ínstar que se alimentaram de folhas de híbridos de milho Bt e não Bt.

Estádios fenológicos	Peso de pupas (g)	Período pupal (dias)	Viabilidade pupal (%)	Deformação de pupas (%)
V3	0,16 \pm 0,01 a	9,58 \pm 0,09 a	86,00 \pm 2,72 a	8,56 \pm 2,43 a
V6	0,16 \pm 0,01 a	9,51 \pm 0,14 a	88,31 \pm 2,73 a	8,22 \pm 2,29 a
Tecnologias				
VT Pro2 [™]	0,15 \pm 0,01 b	9,59 \pm 0,18 a	86,04 \pm 3,47 a	9,26 \pm 3,61 a
Leptra [®]	- ¹	-	-	-
Viptera 3 [®]	0,09 \pm 0,01 a	8,33 \pm 0,88 a	100,00 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 a
PowerCore [™]	0,17 \pm 0,01 c	9,52 \pm 0,20 a	82,31 \pm 4,91 a	9,00 \pm 3,71 a
Herculex [®]	0,17 \pm 0,01 c	9,59 \pm 0,08 a	93,81 \pm 3,31 a	3,93 \pm 2,01 a
Optimum [™]	0,16 \pm 0,01 bc	9,62 \pm 0,09 a	86,36 \pm 5,05 a	9,54 \pm 4,56 a
Não Bt	0,17 \pm 0,01 c	9,89 \pm 0,13 a	86,25 \pm 5,12 a	12,68 \pm 4,97 a

Médias \pm erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Todas as lagartas deste tratamento morreram (variância nula).

Não houve diferença significativa entre os híbridos avaliados para o período da fase pupal, viabilidade pupal e porcentagem de pupas deformadas. Fernandes (2003) verificou que apesar da ação da proteína inseticida, a duração da fase de pupa foi similar entre os tratamentos Bt e não Bt avaliados.

O peso das pupas oriundas de lagartas alimentadas com PowerCore™ em estágio V3 foi significativamente maior que quando foram alimentadas com plantas em V6 ($F = 6,29$; g.l. = 1,42; $P = 0,0161$). As lagartas que se alimentaram com folhas de plantas em V6 de Herculex® apresentaram maior média de peso de pupas ($F = 9,62$; g.l. = 1,42; $P = 0,0034$). As demais tecnologias não apresentaram valores significativos para a interação entre a idade da planta e o peso de pupas. Em V3 o menor peso de pupas foi observado em VT Pro2™, enquanto que em V6 o menor valor foi verificado em Viptera 3®, evidenciando algum efeito no desenvolvimento das pupas (Tabela 6).

Tabela 6. Interação entre estágio fenológico e híbridos de milho para o peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* oriundas de lagartas de terceiro ínstar que se alimentaram de folhas de híbridos de milho Bt e não Bt.

Tecnologias	Estádios Fenológicos	
	V3	V6
VT Pro2™	0,14 ± 0,003 aA	0,14 ± 0,004 bA
Leptra®	- ¹	-
Viptera 3®	- ¹	0,09 ± 0,005 a
PowerCore™	0,18 ± 0,003 bB	0,16 ± 0,005 bcA
Herculex®	0,16 ± 0,002 abA	0,18 ± 0,006 cB
Optimum™ Intrasect™	0,16 ± 0,004 abA	0,16 ± 0,007 bcA
Não Bt	0,16 ± 0,002 abA	0,17 ± 0,007 cA

Médias±erro-padrão com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Todas as lagartas deste tratamento morreram (variância nula).

Em relação à influência da idade da planta sobre os adultos oriundos de lagartas alimentadas com os híbridos avaliados, verificou-se que os adultos foram mais longevos quando alimentados durante a fase larval com plantas mais jovens ($F = 12,19$; g.l. = 1,42; $P = 0,0011$) (Tabela7). Houve diferença significativa entre os híbridos, de modo que a longevidade dos adultos oriundos das lagartas alimentadas com Herculex® apresentaram uma média superior aos demais híbridos avaliados, inclusive o não Bt ($F = 17,16$; g.l = 5,42; $P < 0,0001$).

Fernandes (2003), comparando a longevidade de adultos provenientes de milho Bt e não Bt, relatou a não interferência da planta transformada nesse parâmetro biológico para os insetos sobreviventes, dados que contrariam os observados para as diferentes tecnologias.

A duração do ciclo de vida, a porcentagem de deformação de adultos e a razão sexual não foram influenciadas pela idade da planta e pelas toxinas inseticidas presentes nos híbridos avaliados.

Tabela 7. Média (\pm EP) da duração do ciclo de vida em dias (período da eclosão das lagartas à emergência do adulto), razão sexual, longevidade de adultos (dias) e deformação de adultos (%) de *Spodoptera frugiperda* oriundas das lagartas de terceiro ínstar que se alimentaram de folhas de híbridos de milho Bt e não Bt.

Estádios fenológicos	Duração do ciclo de vida (dias)	Deformação de adultos (%)	Razão sexual	Longevidade de adultos (dias)
V3	26,50 \pm 0,19 a	10,27 \pm 3,07 a	0,44 \pm 0,05 a	4,27 \pm 0,22 a
V6	26,07 \pm 0,22 a	8,85 \pm 3,71 a	0,54 \pm 0,05 a	3,45 \pm 0,17 b
Tecnologias				
VT Pro 2 TM	26,92 \pm 0,48 a	7,60 \pm 3,21 a	0,53 \pm 0,07 a	3,42 \pm 0,22 b
Leptra [®]	- ¹	-	-	-
Viptera 3 [®]	26,33 \pm 0,88 a	33,33 \pm 33,33 a	0,66 \pm 0,33 a	1,33 \pm 0,33 a
PowerCore TM	26,39 \pm 0,36 a	10,50 \pm 4,62 a	0,38 \pm 0,08 a	4,33 \pm 0,33 cd
Herculex [®]	25,81 \pm 0,17 a	10,04 \pm 3,64 a	0,63 \pm 0,05 a	4,79 \pm 0,31 d
Optimum TM	26,19 \pm 0,25 a	2,86 \pm 1,91 a	0,42 \pm 0,07 a	3,71 \pm 0,10 bc
Não Bt	26,05 \pm 0,29 a	9,46 \pm 5,62 a	0,43 \pm 0,06 a	3,68 \pm 0,19 bc

Médias \pm erro-padrão seguidas de letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹ Todas as lagartas deste tratamento morreram (variância nula).

Houve interação significativa entre a idade da planta e os híbridos avaliados para a longevidade de adultos oriundos de lagartas alimentadas com folhas de milho das diferentes tecnologias. Constatou-se que em V3 as tecnologias que proporcionaram maior longevidade dos adultos foram Herculex[®] e PowerCoreTM ($F = 14,74$; g.l. = 4,42; $P < 0,0001$), enquanto que em V6 destacaram-se VTPro 2TM, OptimumTM InstrasectTM, PowerCoreTM e Herculex[®] ($F = 11,56$, g.l. = 5,42; $P < 0,0001$) (Tabela 8).

Tabela 8. Interação entre estádios fenológicos e tecnologias para longevidade de adultos oriundos das lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* que foram alimentadas com folhas de híbridos de milho Bt e não Bt.

Tecnologia	Estádios Fenológicos	
	V3	V6
VT Pro 2 TM	3,79 ± 0,29 abB	3,05 ± 0,25 bA
Leptra [®]	- ¹	-
Viptera 3 [®]	- ¹	1,33 ± 0,33 a
PowerCore TM	4,96 ± 0,52 bcB	3,71 ± 0,13 bA
Herculex [®]	5,58 ± 0,32 cB	3,99 ± 0,14 bA
Optimum TM	3,79 ± 0,17 aA	3,63 ± 0,12 bA
Intrasect TM	3,79 ± 0,17 aA	3,63 ± 0,12 bA
Não Bt	3,21 ± 0,19 aA	4,14 ± 0,14 bB

Médias±erro-padrão com diferentes letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

¹ Todas as lagartas deste tratamento morreram (variância nula).

4. Conclusão

Lagartas de primeiro ínstar são mais suscetíveis que as lagartas de terceiro ínstar aos efeitos das toxinas Bt, independentemente da tecnologia.

Lagartas de terceiro ínstar alimentadas com híbridos de milho com as tecnologias PowerCoreTM, Herculex[®] e OptimumTM IntrasectTM tem desenvolvimento similar ao de lagartas alimentadas com milho não Bt..

5. Referências

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

BERNARDI, D. **Resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a eventos “piramidados” de milho que expressam proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* Berliner**. 2015. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2015.

BERNARDI, D.; SALMERON, E.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. et al. Cross-Resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided bt maize hybrids in Brazil. **PLoS One**, Berkeley, v. 10, n10, p. e0140130, 2015.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C.; BURD, T. OMOTO, C. Selection and characterization of resistance to the Vip3Aa20 protein from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, Sussex, v.72, n. 9, p. 1794–1802, 2016.

BRAVO, A.; SOBERÓN, M. How to cope with insect resistance to Bt toxins? **Trends in Biotechnology**, London, v. 26, n. 10, p. 573-579, 2008.

CARPENTER, J. E. Peer-reviewed surveys indicate positive impact of commercialized GM crops. **Nature Biotechnology**, New York, v.28, n.4, p.219-321, 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: serie histórica, milho, outubro de 2017**. Brasília: CONAB, 2017. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252>>. Acesso em: 28 dez. 2017.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER F. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study. **BioControl**, Dordrecht, v.48, p.611-636, 2003.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis 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, n. 2, p.150–158, 2014a.

FARIAS, J. R.; HORIKOSHI, R. J.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Geographical and temporal variability in susceptibility to Cry1F toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 107, n.6, p. 2182-2189, 2014b.

FERNANDES, O. D. Efeito do milho geneticamente modificado mon810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, n.2, p.25-35, 2003.

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. 487-488, 1976.

HUANG, F.; GHIMIRE, M. N.; LEONARD, B. R.; WANG, J.; DAVES, C.; LEVY, R.; COOK, D.; HEAD, G. P.; YANG, Y.; TEMPLE, J.; FERGUNSON, R. F2 screening for resistance to pyramided *Bacillus thuringiensis* maize in Louisiana and Mississippi populatins of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Pest Management Science**, Sussex, v.67, n.10, p.1269-1276, 2011.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER, R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D.; NI, X.; KERNS, D.; BUNTIN, D.; NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. **PLoS One**, Berkeley, v.9, n.11, p. e112958, 2014.

MENDES, S.M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; 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.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; MACEDO, C.; QUEIROZ, P.; PRAÇA, L.; SOARES, C. M.; MOREIRA, H.; GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. 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**, Berkeley v.10, n.4, p. e119544, 2015.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, Sussex, v.72, n. 9, p. 1727-36, 2016.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1049-1054, 2006.

SANTOS-AMAYA, O. F.; RODRIGUES, J. V. C.; SOUZA, T. C.; TAVARES, C. S.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, E. J. G. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific reports**, London, v.5, n. 18243, 2015.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user software**: Changes and 14 enhancements through release. Cary, NC: Sas Institute, 2011.

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

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

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Grain**: World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service/USDA - Office of Global Analysis, 2017. Disponível em < <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>>. Acesso em: 20 dez. 2017.

VALICENTE, F. H. **Manejo Integrado de Pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125260/1/circ-208.pdf>>. Acesso em 20 dez. 2017.

VAN WYK, A.; VAN DEN BERG, J.; RENSBURG, J.B.J. Comparative efficacy of Bt maize events MON810 and Bt11 against *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. **Crop Protection**, Guildford, v.28, n.1, p.113-116, 2009.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O atual sistema de produção agrícola brasileiro, onde os cultivos ocorrem de forma constante e sucessiva dentro de um mesmo ano, tem favorecido a ocorrência frequente de problemas associados a artrópodes pragas, especialmente os lepidópteros.

Em cultivos de milho, a lagarta-do-cartucho é a que vem causando maiores perdas econômicas, por ser um inseto de alto potencial de dano. Apesar da adoção de cultivos transgênicos (Bt) para o seu controle, diversos relatos de populações resistentes às proteínas inseticidas puderam ser observados através de trabalhos científicos.

O presente trabalho demonstra que a maioria dos eventos de milho Bt disponível no mercado vem apresentando sérios danos por possíveis populações resistentes de *S. frugiperda*, onde as tecnologias que expressam as proteínas Cry1Ab e Cry1F de forma isolada ou combinadas foram as que apresentaram as maiores injúrias. Outro aspecto observado neste trabalho é que o efeito das toxinas Bt sobre os insetos pode ser variável, dependendo da idade da lagarta ou do estágio de desenvolvimento da planta. Além disso, observou-se que os híbridos com a proteína Vip3Aa20 isolada ou combinada com demais proteínas Bt são eficientes no controle de *S. frugiperda*.

Para que a vida útil dessas tecnologias seja prolongada, é imprescindível a adoção das estratégias de Manejo de Resistência de Insetos, que compreendem o plantio de áreas de refúgio, uso de eventos que expressam alta dose da proteína Bt e a piramidação de genes. Além disso, a utilização da tecnologia Bt deve ser feita como uma das ferramentas do Manejo Integrado de Pragas, para que o controle dos insetos-praga seja feito de maneira sustentável sob os pontos de vista econômico e ecológico.