

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MORTALIDADE E CONSUMO DE ESPÉCIES DE
LAGARTAS EM MILHO E SOJA BT**

LILIAN CRIS DALLAGNOL

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Salvadori

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Produção e Proteção de Plantas.

Passo Fundo, maio de 2016

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

“MORTALIDADE E CONSUMO DE ESPÉCIES DE LAGARTAS EM MILHO E SOJA Bt.”

Elaborada por

Lilian Cris Dallagnol

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

Aprovada em: 09/05/2016
Pela Comissão Examinadora


Dr. Jose Roberto Salvadori
Presidente da Comissão Examinadora
Orientador


Dra. Eunice Oliveira Cavete
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia


Dra. Magali Ferrari Grando
FAMV - UPF


Dr. Hélio Carlos Rocha
Diretor FAMV


Dr. Oderlei Bernardi
UFSM

CIP – Catalogação na Publicação

- D144m Dallagnol, Lilian Cris
Mortalidade e consumo de espécies de lagartas em
milho e soja Bt / Lilian Cris Dallagnol. – 2016.
100 f. : il., color. ; 25 cm.
- Orientador: Prof. Dr. José Roberto Salvadori.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade
de Passo Fundo, 2016.
1. Lagarta. 2. Pragas agrícolas – Controle.
3. Melhoramento genético. I. Salvadori, José Roberto,
orientador. II. Título.

CDU: 633

Catálogo: Bibliotecária Cristina Troller - CRB 10/1430

BIOGRAFIA DO AUTOR

Lilian Cris Dallagnol nasceu em 5 de novembro de 1989, na cidade de Tapejara, RS. Em 2012, concluiu o curso de Agronomia pela Universidade de Passo Fundo - UPF. No ano de 2013, ingressou no Mestrado do Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo – RS. Para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, realizou estudos relacionados ao controle de lagartas em soja e milho utilizando plantas Bt, resistentes a insetos.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

AGRADECIMENTOS

A maioria das pessoas espera oportunidades, mas só vencem aquelas que se dedicam a explorar possibilidades. Enquanto os primeiros esperam sentados o convite da ocasião, para se sentarem no banquete da vida, os segundos, os que vencem, deixam as comodidades, o conforto e saem à procura do progresso, do amadurecimento, desafiando as contingências.

E é com muita felicidade, por aqueles que me acompanharam nessa jornada, que manifesto com carinho meus sinceros agradecimentos.

A Deus por ter me concedido as forças necessárias, a perseverança e a fé para realização e concretização deste trabalho.

Aos meus pais, Rejane e Valdomiro, que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas e me mostraram a importância do estudo, mesmo não tendo a mesma oportunidade no passado, faço de minha conquista o instrumento de gratidão, respeito, amor, carinho, compreensão e reconhecimento que recebi.

À minha irmã, Mirian Elisa, pelo apoio, incentivo e pelos momentos de descontração, os quais me ajudaram superar diversas situações difíceis e inesperadas.

Ao meu namorado, Matheus, por ter acreditado em meu potencial, pela colaboração e compreensão e por ser um verdadeiro amigo e companheiro em todos os momentos que passamos juntos. Agradeço por ter aceitado se privar de minha companhia, concedendo-me a oportunidade de realização intelectual e profissional.

Ao meu orientador, professor Doutor José Roberto Salvadori, que ensinou muito mais do que teorias, que me preparou também para vida, todo o meu carinho e gratidão.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Entomologia da Universidade de Passo Fundo, Crislaine, Josemar, Leonardo, Letícia, Raquel, Rafael, Renan, Ricardo, Rodrigo e Welington, pela amizade, apoio e indispensável ajuda.

A todos os amigos, pelo carinho e fiel amizade.

À Universidade de Passo Fundo, ao Programa de Pós-graduação em Agronomia e aos professores, pelos ensinamentos e contribuições para minha formação.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários Paulo, Cinara e Pablo, da Universidade de Passo Fundo/RS, que muito auxiliaram durante o período de execução dos experimentos.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução desse trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Importância e controle de espécies de lagartas.....	20
2.1.1 <i>Spodoptera frugiperda</i>	20
2.1.2 <i>Pseudaletia sequax</i>	24
2.1.3 <i>Helicoverpa armigera</i>	27
2.2 <i>Bacillus thuringiensis</i> e as plantas geneticamente modificadas.....	31
2.2.1 A bactéria <i>B. thuringiensis</i>	31
2.2.2 Mecanismo de ação das proteínas de <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	33
2.2.3 Eventos Bt e sua importância.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Aspectos gerais.....	38
3.2 Incidência e severidade de ataque de <i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i> em milho Bt.....	39
3.3 Mortalidade e consumo de lagartas de <i>Pseudaletia sequax</i> de 3° e 5° ínstar em milho Bt.....	42
3.4 Mortalidade e consumo de lagartas de <i>Helicoverpa</i> <i>armigera</i> de 1° e 4° ínstar em soja Bt e não Bt	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 Incidência e severidade de ataque de <i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i> em milho Bt.....	46
4.1.1 Experimento A.....	46
4.1.2 Experimento B.....	49
4.2 Mortalidade e consumo de lagartas de <i>Pseudaletia sequax</i> de 3° e 5° ínstar em milho Bt.....	51
4.3 Mortalidade e consumo de lagartas de <i>Helicoverpa</i> <i>armigera</i> de 1° e 4° ínstar em soja Bt.....	63
5 CONCLUSÕES	73
REFERÊNCIAS	74

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Especificação dos tratamentos dos Experimentos A e B, sobre incidência e severidade de <i>S. frugiperda</i> em genótipos de milho Bt. FAMV-UPF, Passo Fundo/RS, 2012/13.....	40
2	Escala de notas para avaliação de severidade de ataque de <i>S. frugiperda</i> no cartucho do milho (DAVIS et al., 1992).....	41
3	Escala de notas (0 a 6) para avaliação do dano em legumes de soja por lagartas de <i>H. armigera</i> . FAMV-UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	45
4	Incidência natural (%) e severidade de ataque de lagartas de <i>S. frugiperda</i> em tecnologias Bt de milho – Experimento A. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	47
5	Incidência natural (%) e severidade de ataque de lagartas de <i>S. frugiperda</i> em tecnologias Bt de milho – Experimento B. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	49
6	Mortalidade (%) de lagartas de 3º e 5º ínstars de <i>P. sequax</i> alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	52
7	Tempo de vida (dias) de lagartas de 3º e 5º ínstars de <i>P. sequax</i> alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	56
8	Consumo foliar (cm ²) de lagartas de 3º e 5º ínstars de <i>P. sequax</i> alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	61
9	Mortalidade (%) de lagartas de 1º e 4º ínstars de <i>H. armigera</i> alimentadas com cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	64

14Tabela	Página
10 Mortalidade (%) de lagartas de 1º e 4º ínstars de <i>H. armigera</i> alimentadas com diferentes estruturas de planta de soja. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015...	66
11 Mortalidade (%) de lagartas de <i>H. armigera</i> alimentadas com diferentes estruturas de planta em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	67
12 Tempo de vida (dias) de lagartas de 1º e 4º ínstars de <i>H. armigera</i> alimentadas com diferentes estruturas de planta em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	68
13 Consumo foliar (cm ²) de lagartas de 1º e 4º ínstars de <i>H. armigera</i> em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	70
14 Danos em legumes ¹ em cultivares de soja Bt e não Bt por lagartas de <i>H. armigera</i> , de 1º e 4º ínstars. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mortalidade acumulada de lagartas de 3° ínstar de <i>P. sequax</i> alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt, em função de dias após a infestação. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	58
2	Mortalidade acumulada de lagartas de 5° ínstar de <i>P. sequax</i> alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt, em função de dias após a infestação. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013.....	59

MORTALIDADE E CONSUMO DE ESPÉCIES DE LAGARTAS EM MILHO E SOJA BT

RESUMO – *Spodoptera frugiperda*, *Pseudaletia sequax* e *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) figuram entre as principais pragas do milho e da soja. Essa característica pode ser atribuída à sua polifagia e à sucessiva oferta de alimento no sistema, devido a intensificação agrícola. A adoção contínua e acertada de estratégias de manejo integrado de pragas, no tempo e no espaço, torna-se indispensável para minimizar os efeitos negativos que essas espécies têm causado na agricultura brasileira. Plantas geneticamente modificadas, resistentes a insetos, representam significativo avanço nas táticas de controle desses lepidópteros, uma vez que expressam genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) que codificam proteínas entomotóxicas. Todavia, a eficácia de controle das diferentes toxinas Bt ainda não foi suficientemente explorada e comparada. Por isso, objetivou-se avaliar o efeito de proteínas Bt em diferentes espécies de lagartas, com vistas à eficiência de controle. Foram conduzidos três experimentos, em campo e em ambiente controlado utilizando-se genótipos Bt e não Bt e três espécies de lagartas: *S. frugiperda* e *P. sequax*, nos eventos de milho que expressam as proteínas Cry1F + PAT (TC1507), Cry1Ab (Bt11), Cry1A.105 + Cry2Ab2 (MON89034), VIP3Aa20 (MIR162), Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F + PAT + CP4-EPSPS (MON89034 x TC1507 x NK603), Cry1Ab + VIP3Aa20 + EPSPS (Bt11 + MIR162 + GA21), Cry1F + Cry1Ab + PAT (TC1507 x MON810 x NK603) e testemunha não Bt, e *H. armigera*, em soja portadora das proteínas Cry1Ac + CP4-EPSPS

(MON87701 x MON89788) e em testemunha não Bt. Em milho Bt, a incidência e a severidade de lagartas de *S. frugiperda* é menor na tecnologia MON89034 x TC1507 x NK603 em relação às demais avaliadas. Para *P. sequax*, a mortalidade de lagartas de 3º e 5º ínstar é maior na tecnologia de milho MON89034 x TC1507 x NK603. Essa mesma espécie, morre mais rapidamente quando se alimenta das tecnologias de milho Bt11 x MIR162 x GA21 e MIR162. Os eventos de milho menos consumidos pelas lagartas de *P. sequax* são MIR162 e Bt11 x MIR162 x GA21. A estrutura de planta (folha nova, folha velha e legumes) que serve de alimento para lagartas em soja MON87701 x MON89788 não influencia na mortalidade de 1º ínstar de *H. armigera*. Em lagartas de 4º ínstar, a mortalidade é maior em folhas novas. Em legumes, a mortalidade de lagartas neonatas é maior. As lagartas neonatas de *H. armigera* alimentadas com soja MON87701 x MON89788 morrem mais rapidamente do que as lagartas de 4º ínstar.

Palavras-chave: *Helicoverpa armigera*, manejo, plantas geneticamente modificadas, *Pseudaletia sequax*, *Spodoptera frugiperda*

MORTALITY AND CONSUMPTION OF CARTERPILAR SPECIES IN Bt CORN AND Bt SOYBEAN

ABSTRACT – *Spodoptera frugiperda*, *Pseudaletia sequax* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) are among the main pests in corn and soybeans. This characteristic can be attributed to its polyphagia and continuous food supply in the system, associated with agricultural intensification. The continued suited and adoption of integrated pests management strategies, in time and space, is essential to minimize the negative effects that these species have caused in Brazilian agriculture. Genetically modified plants resistant to insects represent a significant improvement in these lepidopteran control approaches, since they express genes from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) that encode entomotoxic proteins. However, the effectiveness of control of different Bt toxins has not been sufficiently explored and compared. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of Bt proteins in different species of caterpillars, aiming control efficiency. Three experiments were conducted in a controlled field and environment using Bt and non-Bt genotypes and three species of caterpillars: *S. frugiperda* and *P. sequax* in corn and *H. armigera* in soybean. In Bt corn, the incidence and severity of caterpillars of *S. frugiperda* is lower in MON89034 x TC1507 x NK603 technology relationg to other evaluated. For *P. sequax*, the mortality of third and fifth instar carterpillars is higher in MON89034 x TC1507 x NK603 corn technology. This specie dies quickly when it feeds with Bt, Bt11 x MIR162 x GA21 and MIR162 corn technology. Bt corns less consumed by *P. sequax* caterpillars are those with the

MIR162 and Bt11 x MIR162 x GA21 technologies. The plant structure (new leaf, old leaf and pods) that serves as food for caterpillars in Bt soybean does not influence the mortality of first instar *H. armigera*. In fourth instar caterpillars, mortality is higher in young leaves. In pods, the mortality of neonate caterpillars is higher. The neonate caterpillars of *H. armigera* fed with Bt soybean die more quickly than fourth instar caterpillars.

Key words: *Helicoverpa armigera*, management, genetically modified plants, *Pseudaletia sequax*, *Spodoptera frugiperda*

1 INTRODUÇÃO

Dentre os principais produtos que movimentam a economia brasileira estão o milho (*Zea mays* L.), e a soja (*Glycine max* L.), que têm atingido recordes de produção nas últimas safras. As expectativas continuam crescentes, podendo o Brasil se tornar o maior produtor mundial desses grãos. Todavia, uma ampla gama de fatores influencia negativamente neste cenário crescente de produção, dentre os quais estão os insetos-praga, que comprometem o potencial produtivo dessas plantas cultivadas.

Diversos lepidópteros causam injúrias no milho, dentre os quais *S. frugiperda* é considerada praga-chave (FIGUEIREDO et al., 2006). No entanto, lagartas com importância antes secundária, devido às práticas de manejo adotadas, vêm adquirindo evidência, como é o caso de *P. sequax* (RUTHES, 2012). Além disso, a recente chegada de *H. armigera* vem acrescentar mais uma ameaça (ÁVILA et al., 2013; CZEPACK et al., 2013).

Na cultura da soja, as lagartas *Anticarsia gemmatalis* e *Chysodeixis includens* figuram entre as principais pragas. Atualmente, no entanto, lagartas dos gêneros *Spodoptera*, *Heliothis* e *Helicoverpa* vêm ganhando notoriedade devido ao seu potencial de dano (BUENO et al., 2013).

Contudo, devido à intensificação da agricultura brasileira, uma nova característica do sistema é o cultivo de diferentes espécies de plantas lado a lado ou em sequência (ALBERNAZ, 2011), disponibilizando alimento, sítio de reprodução e abrigo para alguns lepidópteros, durante quase todo o ano, especialmente aqueles com

hábito polífago, facilitando a ascensão de diversas espécies à condição de praga (THOMAZONI et al., 2013). Sendo assim, torna-se necessário que o manejo integrado de lagartas envolva o sistema de produção como um todo, como um processo contínuo, visando o restabelecimento de seu equilíbrio (KOGAN, 1998).

Com a intervenção da engenharia genética, plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos representam significativo avanço nas estratégias de controle de lepidópteros-praga nos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), uma vez que expressam genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) que codificam proteínas entomotóxicas. O uso das chamadas plantas Bt se destaca pela expressiva contribuição na manutenção do potencial produtivo das culturas, associada à alta especificidade de ação em pragas-alvo e à prática de agricultura mais sustentável, pela redução do uso de inseticidas e conservação dos inimigos naturais das pragas.

No entanto, ainda não se explorou suficientemente e de forma comparada o quanto as tecnologias de milho Bt, desde os mais antigos até os recentemente lançados, apresentam eficácia de controle de *S. frugiperda*, principal praga-alvo para a qual foram desenvolvidos. Outra limitação de conhecimento é se as tecnologias de milho Bt disponíveis no mercado brasileiro têm efeito sobre pragas não-alvo, como lagartas de *P. sequax*. A mesma limitação existe em relação a *H. armigera* em soja, incluindo a toxicidade diferencial em função do estágio de desenvolvimento das lagartas.

Grande parte dos agricultores, ao adquirirem sementes de plantas que expressam entomotoxinas Bt acredita estar livre da utilização de inseticidas. No entanto, provavelmente devido ao sistema

de produção com oferta contínua de alimento, lepidópteros, antes com importância secundária, vêm atingindo o “status” de praga. *P. sequax* tem causado problemas nas fases iniciais de cultivo do milho e *H. armigera* durante todo o ciclo da soja, resultando em grandes perdas econômicas. Observações de campo indicam que, provavelmente, as tecnologias Bt não sejam efetivas para *P. sequax* e *H. armigera*, como são para as espécies de lagartas-alvo das tecnologias Bt. Conhecimentos a respeito disso são importantes para subsidiar a tomada de decisão no manejo dessas espécies de lagarta.

Diante disso, neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito de proteínas Bt em lagartas de *S. frugiperda* e *P. sequax* em milho e de *H. armigera* em soja, com vistas à eficiência de controle.

Especificamente, objetivou-se:

- avaliar a incidência natural e severidade de ataque de *S. frugiperda* em tecnologias de milho Bt;
- caracterizar a toxicidade de tecnologias de milho Bt para lagartas de *P. sequax* e de soja Bt para lagartas de *H. armigera*;
- avaliar o consumo de lagartas de *P. sequax* e *H. armigera* nas diferentes tecnologias Bt, em milho e soja, respectivamente;
- avaliar a relação entre a toxicidade do Bt e o estágio de desenvolvimento das lagartas de *P. sequax* e *H. armigera*, em milho e soja, respectivamente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nos últimos anos, as “commodities” milho e soja sofreram grande evolução tanto no âmbito da tecnologia da produção e produtividade, como no crescimento da área plantada. Atualmente, o Brasil responde por cerca de 40% da produção mundial de soja e figura entre os três maiores produtores mundiais de milho (SOLOGUREN, 2013). No entanto, a expectativa de um cenário crescente de produção poderá ser comprometida em virtude de problemas fitossanitários que a agricultura brasileira enfrenta nessas culturas, especialmente com insetos-praga da ordem Lepidoptera (ÁVILA et al., 2013).

Uma série de lepidópteros está associada ao milho e à soja e aos sistemas de produção nos quais estas culturas estão inseridas, que podem causar decréscimos significantes no rendimento, dependendo da espécie, época de plantio e genótipo escolhido (GALLO et al., 2002).

Com a influência do monocultivo extensivo aliado ao uso abusivo de inseticidas químicos, a população de inimigos naturais é reduzida, favorecendo o aumento das espécies-praga e sua incidência populacional (CAIXETA, 2015). Por outro lado, a exploração intensiva das áreas (mais safras por ano) e a composição dos sistemas de produção (sucessão de culturas da mesma família, cultivos de cobertura, safrinhas, etc.) têm favorecido a sobrevivência e o crescimento populacional de pragas com hábitos alimentares pouco específicos (EMBRAPA, 2013).

Dentre as pragas mais importantes da cultura do milho se destaca a lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda* S.) (CRUZ et al., 1999). Contudo, outros lepidópteros também causam injúrias expressivas tanto nas partes vegetativas como reprodutivas, como a broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis* F.) (Lepidoptera: Crambidae) e lagarta-da-espiga (*H. zea* B.) (Lepidoptera: Noctuidae) (GALLO et al., 2002; PINTO et al., 2004; BIANCO, 2005; FARIAS, 2010). No entanto, à medida que a exploração da cultura se torna mais intensiva e o nível tecnológico é melhorado, os problemas entomológicos tendem a ser incrementados (CRUZ, 1995). Certamente, devido à associação desses fatores com a falta de adoção do manejo integrado, insetos que não ocorriam na cultura, passaram a ser relatados em alta densidade populacional, dentre esses, a lagarta-do-trigo (*P. sequax* F.) (Lepidoptera: Noctuidae), que vêm atingindo a condição de praga inicial em milho semeado sobre aveia-preta dessecada no sul do Brasil (GASSEN, 1996).

A praga da soja mais tradicionalmente conhecida é a lagarta-da-soja (*A. gemmatilis* H.) (Lepidoptera: Noctuidae) (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000). Entretanto, grandes mudanças aconteceram e continuam acontecendo no cenário agrícola da soja nas distintas regiões produtoras do Brasil (BUENO et al., 2013), resultando em drástica mudança, principalmente, na composição do complexo de lagartas que causam danos expressivos à cultura. Entre elas, as lagartas-falsas-medideiras (*C. includens* W.; *Rachiplusia nu* G.) (Lepidoptera: Noctuidae), consideradas pragas secundárias (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000), tornaram-se, atualmente, espécies de importância, ocorrendo desde o estágio vegetativo até o

reprodutivo (BUENO et al., 2007). Ainda, a lagarta-enroladeira (*Omiodes indicatus* F.) (Lepidoptera: Pyralidae) e espécies de lepidópteros noctuídeos do gênero *Spodoptera* como as lagartas-das-vagens (*S. eridania* C.; *S. cosmioides* W.; *S. albula* W.) e a lagarta-do-cartucho-do-milho (SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Mais recentemente, *H. armigera* H. foi relatada em soja no Brasil (CZEPACK et al., 2013) e tem atacado intensamente a soja, além de outras culturas de importância econômica.

Diante deste cenário de modificações na bioecologia das pragas em decorrência do manejo errôneo, a busca por alternativas de controle racionais têm sido o grande desafio das pesquisas entomológicas. Nesse sentido, os avanços da engenharia genética possibilitaram o desenvolvimento de plantas resistentes a pragas através da transgenia, uma estratégia de controle menos nociva ao ambiente, ao homem, e seletiva aos organismos-alvo (BONALDO et al., 2005).

2.1 Importância e controle de espécies de lagartas

2.1.1 *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho do milho, *S. frugiperda* é amplamente difundida no continente americano, especialmente nas regiões de clima tropical (PEDIGO, 1989). É uma praga migratória (LUGINBILL, 1928), com ampla distribuição geográfica (WAQUIL et al., 2008), e capacidade de dispersão (PEDGLEY, 1985). Estima-se

que as perdas anuais decorrentes do ataque dessa praga atinjam a ordem de quatrocentos milhões de dólares (ETGES, 2010).

Apesar de sua preferência por espécies gramíneas, a lagarta-do-cartucho é altamente polífaga (FERNANDEZ, 2013), sendo relatada em culturas como milho (WAQUIL et al., 2008), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (SANTOS, 2011), arroz (*Oryza sativa* L.) (BOTTON et al., 1998), trigo (*Triticum aestivum* L.) (TAKAHASHI et al., 1980), sorgo (*Sorghum bicolor*, L.) (CORTEZ & WAQUIL, 1997), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (ISIDRO et al., 1997), soja (MOSCARDI & KASTELIC, 1985), além de utilizar hospedeiros alternativos para se manter nos agroecossistemas (BARROS et al., 2010). O rol de hospedeiros chega a cento e oitenta espécies vegetais (CASMUZ et al., 2010).

Em função da disponibilidade de alimentos diversificados durante todo o ano, aliado ao clima favorável, o Brasil abriga essa espécie de norte a sul (CRUZ, 1999), principalmente na cultura do milho, na qual é considerada praga-chave (CRUZ et al., 1999). Sob temperaturas mais elevadas pode produzir até treze gerações por ano, já que não apresenta diapausa (AFONSO et al., 2009).

Lagartas de primeiros ínstaes provocam injúrias menos expressivas no milho, como raspagens no parênquima foliar (BUSATO et al., 2006). Contudo, lagartas maiores se instalam, individualmente, no cartucho da planta, podendo também se alimentar das espigas (GRÜTZMACHER et al., 2000), causando danos diretos e indiretos significativos. Fernandes (2003) afirmou que a cultura do milho é mais sensível ao ataque de *S. frugiperda* entre os estádios de oito e dez folhas completamente abertas.

Devido às características de dispersão e polifagia da lagarta-do-cartucho, associadas à sobreposição e sucessão de cultivos agrícolas brasileiros (SORGATTO, 2013), as estratégias de controle se direcionam à aplicação de inseticidas, que nem sempre são eficientes (CORTEZ & TRUJILLO, 1994). O hábito de permanecer abrigada dentro do cartucho dificulta o contato com os defensivos agrícolas (GASSEN, 1996), não proporcionando controle efetivo, favorecendo a prática de frequentes pulverizações (MOSCARDI & SOUZA, 2002).

Devido ao emprego abusivo de defensivos químicos, geralmente não seletivos, a seleção de populações de insetos resistentes é estimulada, bem como a ocorrência de surtos de pragas secundárias (DIEZ-RODRÍGUEZ & OMOTO, 2001).

Visando minimizar os danos ambientais e sociais relacionados ao uso errôneo de inseticidas, a adoção de plantas transformadas geneticamente, com resistência a insetos (MAAGD et al., 2001), se estabeleceu como alternativa promissora no contexto do MIP.

Com base na importância dos prejuízos causados no milho, *S. frugiperda* foi o alvo principal dos primeiros eventos Bt desenvolvidos no Brasil (MICHELOTTO et al., 2013).

Harde et al. (2011) estudaram o efeito do milho transgênico expressando as proteínas Cry1Ab e Cry1F sobre *S. frugiperda* e concluíram que o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência das lagartas foi reduzido, em comparação às isolinhas não Bt. Em trabalho semelhante, Mendes et al. (2011) avaliaram os parâmetros biológicos de *S. frugiperda* alimentadas com híbridos de

milho com a proteína Cry1Ab e demonstraram que a biomassa de larvas e pupas e a sobrevivência das lagartas é menor do que em híbridos não transgênicos.

A proteína Cry1F, expressa no evento TC1507 de milho, foi uma das maneiras mais eficientes no controle de *S. frugiperda*, mas, atualmente sua eficiência foi comprovadamente reduzida em função do desenvolvimento de populações resistentes (FARIAS et al., 2014).

O primeiro relato de lagartas de *S. frugiperda* resistentes ao milho Bt aconteceu em 2006, em Porto Rico, no evento TC1507, as quais continuam com elevados níveis de resistência à proteína Cry1F (STORER et al., 2012). Na região sudeste dos Estados Unidos também foi documentada resistência de campo de *S. frugiperda* à proteína Cry1F de milho (HUANG et al., 2014).

Utilizando cepas de *S. frugiperda*, altamente resistentes à proteína Cry1F, originárias de Porto Rico, Niu et al. (2014) estudaram, comparativamente, com populações heterozigotas e homozigotas suscetíveis, a sobrevivência de lagartas ao se alimentarem de híbridos de milho contendo as proteínas Cry1F, Cry1Ab, e mais seis híbridos com eventos piramidados. Os resultados permitiram concluir que, os eventos contendo mais do que uma proteína no genoma, são mais eficientes. Waquil et al. (2013) concluíram que o evento piramidado de milho MON 89034, que expressa as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab2 é eficiente no controle de *S. frugiperda*, *H. zea* e *D. saccharalis*.

As proteínas de milho Vip3Aa, Vip3Af, Cry1Ab e Cry1Fa foram testadas por Sena et al. (2009), que concluiu que Vip3A é mais

tóxica para *S. frugiperda* que Cry1, e que Cry1Ab e Cry1F competem pelo mesmo sítio de ligação no intestino médio das lagartas.

Huang et al. (2012) estudaram a suscetibilidade de diferentes populações americanas de *S. frugiperda* à proteína Vip3Aa20 expressa em milho, e comprovou que todas elas foram sensíveis, sobrevivendo por, no máximo, sete dias após a alimentação.

Waquil et al. (2002), ao avaliarem a eficiência das toxinas Cry 1Ab, Cry 1Ac, Cry 9C, Cry 1F, em milho nos EUA, observaram diferentes níveis de resistência dos híbridos a *S. frugiperda*, e os que expressavam as toxinas Cry1F, Cry 1Ab, Cry 1Ac e Cry 9C foram considerados altamente resistente, resistente, moderadamente resistente e suscetível, respectivamente.

2.1.2 *Pseudaletia sequax*

Lagartas do gênero *Pseudaletia* (=Mythimna) são importantes pragas de culturas de cereais em todo o mundo (MARCHIORO & FOERSTER, 2012). A espécie *P. sequax*, vulgarmente conhecida como lagarta-do-trigo, é polífaga e se alimenta de folhas e inflorescências (SALVADORI & PARRA, 1990b) de diversas gramíneas de importância econômica, como trigo, cevada (*Hordeum vulgare* L.), aveia (*Avena sativa* L.) (FOERSTER et al., 1999), forrageiras (ALMEIDA et al., 2008), sorgo e milho (BERTELS, 1970). Sua ocorrência é relatada em regiões tropicais da América Central e do Sul (FRANCLEMONT, 1951).

No Brasil, ocorre principalmente na região Sul, em locais úmidos e com temperatura mais amena (RUTHES, 2012). É reportada

como praga de plântulas de milho, especialmente no sistema em sucessão a cultivos de aveia preta de cobertura, de modo que o incremento na densidade populacional foi diretamente influenciado pela adoção do sistema de plantio direto. Essa situação é provocada pois as lagartas passam de um cultivo para outro, em ínstares avançados, comprometendo o estande das plantas e o potencial produtivo (GASSEN, 1996).

Em milho, a lagarta-do-trigo se alimenta das bordas da folha em direção a nervura central, comprometendo a atividade fotossintética (SCHAAFSMA et al., 2007). Seus ataques costumam ser severos, uma vez que, uma única lagarta desenvolvida, em duas noites, consome uma plântula de milho com duas folhas (GASSEN, 1996).

O monitoramento de lagartas nas culturas antecessoras é muito importante para evitar danos na fase inicial do milho (RUTHES, 2012). Pode-se lançar mão de algumas técnicas de manejo para reduzir os índices populacionais de pragas em culturas de cobertura, e prevenir o ataque no milho.

Dentre as práticas mais indicadas está a utilização de um intervalo de quarenta dias entre a aplicação de herbicidas dessecantes e a semeadura (RUTHES, 2012), favorecendo a morte de lagartas por falta de alimento. Outra estratégia é a adição de produtos inseticidas no momento da dessecação (LINK, 2001), prática preventiva reprovada no contexto do MIP, o qual preconiza a utilização de medidas de controle somente quando o nível de ação for atingido (GALLO et al., 2002). Complementarmente, podem-se utilizar inseticidas no tratamento de sementes. Entretanto, para boa ação de

controle em lagartas é necessária a adoção de produtos de amplo espectro de ação, como os carbamatos e organofosforados, que não são específicos para a praga-alvo. A opção pela pulverização de inseticidas no início do desenvolvimento do milho é uma técnica pouco efetiva, pela reduzida área foliar das plântulas, que dificulta a retenção do produto e diminui seu poder residual (CRUZ & BIANCO, 2001). A utilização de milho geneticamente modificado com resistência a insetos é uma estratégia econômica e ambientalmente viável (ANDRADE et al., 2012). No entanto, não se conhece a toxicidade de todos os eventos de milho Bt liberados pela Comissão Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), sobre a lagarta-do-trigo, praga não alvo da tecnologia.

Ruthes (2012) concluiu que o milho geneticamente modificado expressando a proteína Cry1F, associado a outras práticas de manejo, como o tratamento de sementes, contribui na redução de danos ocasionados por *P. sequax* no início do desenvolvimento. Schaafsma et al. (2007) afirmam que o milho Bt apresenta maior resistência às injúrias da lagarta *P. unipuncta* comparado ao não Bt, todavia, o genótipo com a proteína Cry1Ab foi menos atacado que o genótipo com a proteína Cry1F, evidenciando diferenças de eficácia entre as proteínas.

Híbridos de milho Bt, na Espanha, têm demonstrado controle insatisfatório de lepidópteros-praga secundários, como *M. unipuncta*, causando preocupação aos agricultores (GONZÁLEZ-CABRERA et al., 2013). Danos significativos causados por *M. unipuncta* em milho Bt foram reportados por Eizaguirre et al. (2010), contudo, pequena percentagem de lagartas sobreviveu e completou o

desenvolvimento em milho Bt expressando a proteína Cry1Ab. Esse resultado indica que a concentração Cry1Ab representa baixa dose para *M. unipuncta*, ou seja, a proteína não é expressa em dose suficientemente alta para matar as lagartas, favorecendo o desenvolvimento de resistência de populações (GONZÁLEZ-CABRERA et al., 2013).

Schaafsma et al. (2007) concluíram que o milho Bt foi menos danificado do que o não Bt por *P. unipuncta*. Os autores verificaram que híbridos com a proteína Cry1Ab foram menos injuriados do que aqueles expressando a proteína Cry1F. Hardke et al. (2010) verificaram que híbridos de milho expressando a toxina Cry1F foram mais danificados do que aqueles portadores de Cry1Ab pela lagarta-do-cartucho. Rosseto et al. (2012) concluíram que a tecnologia Bt Cry1A.105 + Cry1F + Cry2Ab2 é eficiente no controle das lagartas de *S. cosmioides*, *S. eridania* e *P. sequax*.

2.1.3 *Helicoverpa armigera*

A lagarta *H. armigera* é um dos insetos-praga mais importantes e impactantes no mundo (FITT, 1989), uma vez que seu hábito altamente polífago lhe confere potencial para causar danos em mais de cento e vinte espécies de plantas selvagens e cultivadas (BOGACHEV, 1954), tais como algodão, soja e milho (LIU et al., 2014). Lammers & Macleod (2007) estimam que a perda mundial causada por essa espécie alcance 5 bilhões de dólares por ano, excluindo os custos socioeconômicos e ambientais associados ao seu controle (TAY et al., 2013).

Sua distribuição geográfica já foi registrada na Europa, África, Ásia e Oceania (ZALUCKI et al. 1986, GUO 1997), e mais recentemente, no Brasil (CZEPACK et al., 2013; SPECHT et al., 2013), onde era considerada praga quarentenária A1, sendo este, o primeiro registro de ocorrência no continente americano (ÁVILA et al., 2013), mais especificamente nos estados de Goiás, Mato Grosso e Bahia. No Rio Grande do Sul, sua presença foi constatada meses mais tarde, no mesmo ano (SALVADORI et al., 2013), assim como no Paraguai (SENAVE, 2013) e na Argentina (MURÚA et al., 2014).

A importância dessa praga na agricultura está associada à preferência alimentar por órgãos reprodutivos (PERKINS et al., 2009), em virtude de seu maior valor nutricional (WANG & LI, 1984), além de caules, brotos e folhas, capacidade de adaptação a ambientes adversos (CZEPACK et al., 2013), alta mobilidade (DRAKE, 1991), elevado desempenho reprodutivo (RAZMJOU et al., 2013) e tendência a desenvolver resistência a inseticidas (FITT, 1989).

No Brasil, *H. armigera* já foi encontrada em algodão, soja, milho, tomate, feijão, sorgo, milheto, guandu, trigo, crotalária e em diversas plantas daninhas (ÁVILA et al., 2013; SALVADORI et al., 2014).

Ainda não é conhecido como *H. armigera* entrou na América do Sul. Tay et al. (2013) afirmaram que existem duas formas de introdução biológica de novas espécies em um local, intencional ou acidental, esta última, estreitamente relacionada com a própria atividade humana.

Leite et al. (2014) sugeriram que a invasão dessa espécie no Brasil tenha ocorrido antes do primeiro relatório oficial, uma vez

que a semelhança morfológica com outras espécies pertencentes a subfamília Heliothinae, como *H. virescens*, *H. zea* e *H. gelotopoeon* pode ter causado confundimento. Algumas hipóteses propõem que *H. zea* evoluiu de uma pequena parte da grande população de *H. armigera* (MALLET et al., 1993), já que essas duas espécies são capazes de copular e produzir descendentes férteis em condições de laboratório (CHO et al., 2008).

Estudos a nível molecular evidenciaram que existem pelo menos quatro linhagens maternas de *H. armigera* presentes no Brasil, estabelecendo com sucesso pelo menos duas populações (TAY et al., 2013).

As implicações da presença de *H. armigera* no país tem sido tratadas como risco à agricultura, pois seu controle é dificultado em função da ampla gama de hospedeiros na paisagem ao longo do ano, especialmente no cerrado brasileiro, incluindo plantas que servem de refúgio quando do controle químico, e como fontes de recolonização (TAY et al., 2013).

Outro fator preocupante é o seu potencial de evolução de resistência aos inseticidas (FITT & WILSON, 2000; MARTIN et al., 2005) e a plantas geneticamente modificadas portadoras de genes de *B. thuringiensis* (YANG et al., 2013a).

Para controle de lagartas de *H. armigera*, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou, em caráter emergencial, o registro temporário de alguns inseticidas químicos e biológicos, com recomendação de aplicação nos primeiros ínstares larvais, quando a suscetibilidade aos ingredientes ativos é maior (EMBRAPA, 2013).

O potencial de desenvolvimento de resistência de *H. armigera* a plantas Bt é aumentado pelo cultivo em sucessão de espécies vegetais portadoras dos mesmos eventos transgênicos (JAMES, 2012), aliado à baixa utilização de refúgio, resultando em acréscimo da pressão de seleção de indivíduos resistentes. Todavia, os eventos Bt, especialmente aqueles que expressam mais de uma proteína inseticida, constituem estratégia promissora no controle de *H. armigera* (ÁVILA et al., 2013). Mas, no Brasil, ainda não existem estudos conclusivos quanto à toxicidade de soja MON87701 x MON89788 sobre *H. armigera*, praga não alvo da tecnologia.

Na China, populações suscetíveis de *H. armigera* foram monitoradas e manejadas corretamente em campo durante nove anos, e mantiveram a suscetibilidade à proteína Cry1Ac do algodão (WU et al., 2007), indicando que o manejo integrado é a melhor alternativa contra a evolução da resistência.

Li & Bouwer (2014) avaliaram a toxicidade de seis proteínas Cry no controle de *H. armigera* em dieta artificial e concluíram que as misturas de Cry1Ac e Cry2Aa ou CryAc e Cry1Ca podem ser componentes úteis nos programas de manejo desta praga. Gujar et al. (2007) relatam que o empilhamento dos genes Cry1A e Cry2A em algodão forneceu proteção satisfatória contra a espécie.

Liao et al. (2002) testaram a suscetibilidade de *H. armigera* e *H. punctigera* a diferentes proteínas Bt e Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, Cry2Ab e Vip3A mostraram eficiência de controle aceitável. Valaitis (2011) complementa afirmando que a proteína Cry1Ac parece ser a mais tóxica por possuir maior número de ligações e maior afinidade de ligação com receptores no intestino médio. No entanto,

outros estudos comprovam que as proteínas Cry1Kh, Cry1Eb, Cry1Ka, Cry2Aa, Cry2Ab e Cry 2Af também são ativadas no intestino médio de *H. armigera* (VAN FRANKENHUYZEN, 2009). Na Índia, foi constatada maior suscetibilidade da espécie às proteínas Cry1Ac e Cry2Aa em relação a Cry1Ab (KRANTHI et al., 2010; BABU et al., 2002).

Comparando diferentes estádios larvais de *H. armigera*, Bird & Akhurst (2007) concluíram que os três primeiros ínstaes são os mais suscetíveis aos efeitos subletais à proteína Cry1Ac, enquanto que são mais facilmente controlados pela proteína Cry1Ab.

Em relação à toxicidade e às concentrações letais de proteínas Bt, existe grande variabilidade em lagartas de *H. armigera* de diferentes populações e regiões do mundo (PINÓIA, 2012), demonstrando necessidade de estudo regionalizado com os genótipos e eventos Bt disponíveis em cada país.

2.2 *Bacillus thuringiensis* e as plantas geneticamente modificadas

2.2.1 A bactéria *B. thuringiensis*

B. thuringiensis é uma bactéria de solo, Gram positiva (DE MAAGD et al., 2003), ubíqua (KRYWUNCZYK & FAST, 1980), aeróbia ou facultativamente anaeróbia (BROBOWSKI et al., 2003), que apresenta duas fases principais durante seu ciclo de vida: uma de crescimento vegetativo, na qual se multiplica por bipartição, havendo crescimento exponencial das células bacterianas pela grande disponibilidade de nutrientes, e outra, de esporulação, que ocorre

quando o meio se torna adverso, cessando a reprodução celular e estimulando a maturação do endósporo (PINTO & FIUZA, 2008; DUMAS, 2009).

Essa bactéria pode produzir distintas proteínas entomopatogênicas, dentre as quais estão as alfa e beta exotoxinas, exoenzimas (LIMA, 2010), proteínas VIP (Vegetative Insecticidal Protein) (ESTRUCH et al., 1996) e as delta-endotoxinas ou proteínas Cry (Insecticidal Crystal Protein) (SCHNEPF et al., 1998).

Durante a fase de crescimento vegetativo a proteína VIP é produzida e secretada (DUMAS, 2009) e não forma inclusões cristalinas (LIMA, 2010). Possui função destrutiva da atividade digestiva do espectro de pragas alvo, que inclui coleópteros (Vip1 e Vip2) e lepidópteros (Vip3) (ESTRUCH et al., 1996; CHEN et al., 2003; SHI et al., 2004).

Na fase estacionária da esporulação são produzidas inclusões cristalinas formadas por proteínas denominadas delta-endotoxinas ou Cry, de “Insecticidal Crystal Proteins” (DE MAAGD et al., 2003), com atividade inseticida, que ficam acumuladas no compartimento da célula-mãe até a esporulação, momento em que o cristal e o esporo são liberados (LIMA, 2010). Enquanto o esporo representa a forma de resistência da bactéria e pode perdurar por anos, os cristais têm durabilidade incerta, dependendo das condições de ambiente (HÖFTE & WHITELEY, 1989).

Estas toxinas são ativas contra diversas ordens de insetos como Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (VAN FRANKENHUYZEN, 2009), Hymenoptera, Hemiptera, ácaros (FEITELSON, 1992) e alguns nematóides (SCHNEPF et al., 1998).

Apesar de não ter relação com as proteínas Cry, as proteínas VIP atuam de forma semelhante (BERNARDI et al., 2012). Contudo, apresentam propriedades distintas de ligação, indicando baixo potencial de resistência cruzada entre elas (JACKSON et al., 2007), em função da ausência de similaridade em suas sequências de aminoácidos (FANG, 2007).

As alternativas de controle de pragas utilizando o Bt são os inseticidas biológicos formulados, utilizados há mais de 50 anos no Brasil (BOBROWSKI et al., 2003) e, mais recentemente, plantas geneticamente modificadas, expressando proteínas inseticidas nos seus genomas (BETZ et al., 2000), desenvolvidas através da engenharia genética.

2.2.2 Mecanismo de ação das proteínas de *B. thuringiensis*

Na forma como são sintetizadas, as proteínas de *B. thuringiensis* são protoxinas, sem ação entomopatogênica, necessitando ativação através da ingestão para desencadear seus efeitos (MARTINELLI & OMOTO, 2005). O mecanismo de ação dessas proteínas envolve uma série de etapas. Após a ingestão e digestão dos cristais protéicos, eles são solubilizados no intestino médio, permitindo a dissolução da maioria das protoxinas de *B. thuringiensis* (ARONSON et al., 1986; KNOWLES, 1994; BRAVO et al., 2005).

A ativação das protoxinas é dependente do pH alcalino do mesêntero da praga alvo. As proteínas específicas para a ordem Lepidoptera, que possuem pH intestinal entre 9 e 12 (MARTINS,

2009) são solúveis em pH acima de 9,5 (KNOWLES & DOW, 1993). Após a solubilização, as protoxinas, em forma de cristais, são clivadas por enzimas digestivas, geralmente proteases (AGUIAR, 2007), originando um fragmento resistente à ação enzimática que, por sua vez, é considerado a toxina inseticida na sua forma ativa (FERRÉ & VAN RIE, 2002).

A toxina inseticida hidrolisada atravessa a membrana peritrófica, e se liga, com alta afinidade, e de forma irreversível, a receptores glicoprotéicos específicos (BERNARDI, 2012; MARTINELLI & OMOTO, 2005), localizados nas microvilosidades das células colunares do intestino médio dos insetos suscetíveis (FARIAS, 2010). Essa ligação implicará na formação de poros na membrana celular, provocando interferência no gradiente iônico e no balanço osmótico da membrana (VAN RIE et al., 1989; IHARA et al., 1993; LIANG et al., 1995; SCHENEPF et al, 1998; FIUZA, 2010), aumentando a permeabilidade de cátions, ânions, água e moléculas de maior tamanho (WOLFERSBERG, 1996). Isso, por sua vez, causa destruição das microvilosidades, hipertrofia das células epiteliais, vacuolização do citoplasma e lise celular (GILL et al., 1992; FIUZA, 2010). A liberação do conteúdo celular permite aos esporos acesso à hemolinfa (DU & NICKERSON, 1996), meio esporulante (BERNARDI et al., 2011) no qual germinam. Nos lepidópteros, a intoxicação se manifesta pela imediata paralisia intestinal e bucal, levando à interrupção da alimentação (MARTINELLI E OMOTO, 2005) e, finalmente, à morte por inanição e septicemia (MONNERAT & BRAVO, 2000).

Os sintomas característicos da ingestão de proteínas tóxicas por insetos são, principalmente, perda de apetite e abandono do alimento, paralisia do intestino, vômito, diarreia e paralisia total (ARONSON et al., 1986).

Os receptores intestinais das larvas de Lepidoptera envolvidos na ligação das toxinas Bt são uma aminopeptidase-N (APN) e uma fosfatase alcalina (ALP), uma proteína do tipo caderina (CADR) e um glicoconjugado (GCR) (BRAVO et al., 2007; PIGOTT & ELLAR, 2007; SOBERÓN et al., 2009). Sendo assim, a especificidade das proteínas aos insetos é totalmente influenciada pelas distinções morfofisiológicas dos seus intestinos (PINHEIRO, 2013), que podem apresentar diversas classes de receptores, em quantidades variáveis, reconhecidos por diferentes toxinas (FIUZA, 2010).

Logo, o melhor conhecimento a respeito dos receptores permitiu que a primeira geração de plantas Bt, que expressa somente uma toxina, fosse aprimorada para a segunda geração, que expressa duas ou mais proteínas com ação inseticida, denominadas de eventos piramidados, quando as combinações de proteínas inseticidas são tóxicas à mesma praga-alvo, ou de planta estaqueada, quando as proteínas atuam independentemente, não agindo sobre a mesma praga alvo (BERNARDI et al., 2011). A utilização múltipla de proteínas Bt sugere alto potencial de retardamento da resistência de insetos (ZHAO et al., 2003).

2.2.3 Eventos Bt e sua importância

A competitividade proporcionada ao agronegócio brasileiro com as plantas Bt fez com que elas ocupassem expressiva parte das áreas agrícolas, em curto espaço de tempo (NETO et al., 2013). Na safra 2015/16, a estimativa de plantio de cultivos geneticamente modificados é de 44,2 milhões de hectares, com aumento de 3,9% da área total em relação à safra anterior (CÉLERES, 2016).

Os eventos de plantas geneticamente modificadas e as respectivas proteínas de resistência a insetos disponíveis, atualmente, no mercado brasileiro para milho são: MON810 (Cry1Ab), Bt11 (Cry1Ab + PAT), TC1507 (Cry1F + PAT), NK603 x MON810 (CP4-EPSPS + Cry1Ab), Bt11 x GA21 (Cry1Ab + PAT + mEPSPS), MIR162 (VIP3Aa20), TC1507 x NK603 (Cry1F + PAT + CP4-EPSPS), MON89034 (Cry1A.105 + Cry2Aab2), Bt11 x MIR162 x GA21 (Cry1Ab + VIP3Aa20 + mEPSPS), MON89034 x NK603 (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + CP4-EPSPS), MON88017 (CP4-EPSPS + Cry3Bb1), MON89034 x TC1507 x NK603 (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F PAT + CP4-EPSPS), MON810 x TC1507 x NK603 (cry1Ab + Cry1F + PAT + CP4EPSPS), TC1507 x MON810 (Cry1F + Cry1Ab + PAT), MON89034 x MON88017 (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry3Bb1 + CP4-EPSPS), TC1507 x DAS-59122-7 (Cry1F + PAT + cry34Ab1 cry35Ab1), Bt11 x MIR162 x MIR604 x GA21 (Cry1Ab + PAT + VIP3Aa20 + mcry3A + mEPSPS), MIR604 (mcry3A), TC1507 x MON810 x MIR162 x NK603 (cry1F + cry1Ab + PAT + VIP3Aa20 + CP4-EPSPS), C1507 x MIR162 x NK603 (cry1F + PAT +

VIP3Aa20 + CP4-EPSPS), TC1507 x MIR162 (cry1F + PAT + VIP3Aa20), MIR162 x NK603 (VIP3Aa20 + CP4-EPSPS), MON810 x MIR162 (Cry1Ab + VIP3Aa20), TC1507 x MON810 x MIR162 (Cry1F + PAT + VIP3Aa20 + cry1Ab), Bt11 x MIR162 x MIR604 x TC1507 x 5307 x GA21 (eCry3.1Ab + cry1Ab + Vip3Aa20 + Cry3a + Cry1f + PAT + Mepsps) e MON89034 x TC1507 x NK603 x DAS40278-9 (Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F + PAT + CP4-EPSPS/aad-1) (CTNBio, 2016).

Em soja são disponíveis os eventos piramidados MON87701 + MON89788 (CP4-EPSPS + Cry1Ac) (CTNBio, 2016). Os eventos PAT e CP4-EPSPS conferem resistência a herbicidas. Esses eventos foram aprovados para liberação comercial individualmente e/ou em suas formas combinadas (CTNBio, 2016).

A inclusão de plantas Bt nos sistemas de cultivo proporciona inúmeros benefícios, dentre os quais, a especificidade a insetos sensíveis às toxinas (DUMAS, 2009), segurança na utilização, uma vez que são inócuos aos mamíferos e não persistem no ambiente (SIEGEL, 2001), redução no uso de inseticidas sintéticos (BROBOWSKI et al., 2003), de tal forma a contribuir, inclusive, na preservação dos inimigos naturais. Além disso, a tecnologia Bt tem ação contínua durante todo o ciclo da cultura (CASTRO, 2008), e sua eficiência não é afetada por fatores ambientais (BETZ et al., 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos gerais

No campo e em ambiente controlado foram conduzidos experimentos utilizando-se genótipos Bt e três espécies de lagartas: *S. frugiperda* e *P. sequax*, em milho, e, *H. armigera*, em soja.

O trabalho de campo foi realizado na área experimental do Centro de Pesquisa Agropecuária (CEPAGRO) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS. Foram conduzidos dois experimentos semelhantes, denominados “Incidência e severidade de ataque de *S. frugiperda* em milho Bt”, os quais diferiram quanto aos genótipos avaliados em cada um. Estes foram identificados como Experimento A e Experimento B.

Os trabalhos de laboratório foram realizados no Laboratório de Entomologia, em casa-de-vegetação e em câmara climatizada, com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase 12 horas, da FAMV – UPF. Os experimentos realizados em laboratório foram: “Mortalidade e consumo de lagartas de *P. sequax* de 3º e 5º ínstar em milho Bt” e “Mortalidade e consumo de lagartas de *H. armigera* de 1º e 4º ínstar em soja Bt e não Bt”.

Os insetos utilizados em todas as etapas deste estudo foram provenientes de criações mantidas no Laboratório de Entomologia, da FAMV - UPF. As lagartas de *P. sequax* e *H. armigera* foram criadas em dieta artificial (GREENE et al., 1976), em

câmara climatizada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

3.2 Incidência e severidade de ataque de *S. frugiperda* em milho Bt

Na safra 2012/13, dois experimentos (A e B), com o mesmo objetivo, foram conduzidos, simultaneamente, com híbridos de milho portadores das mesmas tecnologias Bt, no entanto, contando com diferentes bases genéticas, fornecidos pelas empresas Syngenta® (Experimento A) e Dow Agrosiences® (Experimento B) (Tabela 1).

Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental de blocos casualizados, com oito tratamentos no experimento A e sete tratamentos no Experimento B, e quatro repetições para ambos.

As parcelas experimentais foram compostas por quatro linhas de 7 metros de comprimento, com espaçamento de 0,45 m. O manejo da cultura obedeceu às práticas indicadas no que se refere a aplicação de fungicidas em tratamento de sementes, pulverização de herbicidas e aplicação de fertilizantes. As sementes foram tratadas com fludioxonil 0,75 g + mefenoxan 0,6 g + tiabendazole 30 g + tiametoxan 52,5 g + abamectina 30 g/60000 sementes (Avicta Completo) e semeadas sob plantio direto após a cultura de aveia preta pré-dessecada com herbicida. Para a adubação foram usados 80 kg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ha}$, 80 kg de $\text{K}_2\text{O}/\text{ha}$ e 32 kg de N/ha . Em cobertura, aos 32 dias após a emergência foram utilizados 150 kg de N/ha , na forma de uréia, e 60 kg/ha de K_2O , na forma de cloreto de potássio. Para o controle de plantas daninhas foi utilizada a mistura de atrazine 0,3 L p.c. +

mesotrione 120 g i.a/ha (Callisto) no estágio V1. Todas as parcelas dos experimentos receberam as mesmas doses de insumos. Não foram realizadas aplicações de inseticidas para controle de pragas.

Tabela 1 - Especificação dos tratamentos dos Experimentos A e B, sobre incidência e severidade de *S. frugiperda* em genótipos de milho Bt. FAMV-UPF, Passo Fundo/RS, 2012/13

Evento	Proteína	Nome comercial	Genótipo		Sigla
			Experimento A	Experimento B	
TC1507	Cry 1F + PAT	Herculex®	P30F53 HX	2B587	HX
Bt11	Cry 1Ab	Agrisure TL®	Celeron TL	-	TL
MON89034 x NK603	Cry 1A.105 (1Ab, 1Ac, 1F) + Cry2Ab2 + CP4-EPSPS	YieldGard VTPRO®	AS1555 Pro2	DKB390	PRO2
MIR 162	VIP3Aa20	Viptera®	Syn8A98VIP	Status	VIP
MON89034 x TC1507 x NK603	Cry1A.105 + Cry2Ab2 + Cry1F + PAT + CP4-EPSPS	Powercore™	Morgan 30A91MON89034 x TC1507 x NK603	2B587	PW
Bt11 x MIR162 x GA21	Cry1Ab + VIP3Aa20 + EPSPS	Viptera 3®	Syn7205TLTGVIP	Maximus	VIP3
TC1507 x MON810 x NK603	Cry1F + Cry1Ab + PAT	Optimum™ Intrasect™	P30F53 YH	P30R50	YH
Testemunha (não Bt)	-	Convencional	AG 8025	2B587	-

Quando as plantas de milho atingiram o estágio fenológico V4 (RITCHIE et al., 1993) foram realizadas avaliações visuais para verificar a incidência natural de lagartas de *S. frugiperda* e a severidade de ataque nas distintas tecnologias Bt, em 50 plantas, tomadas ao acaso, nas duas linhas centrais de cada parcela. Para

determinação da incidência, anotou-se a percentagem de plantas com injúria (qualquer tipo de lesão e intensidade). Para avaliar a desfolha (severidade) adotou-se a escala visual de dano proposta por Davis et al. (1992), que varia de 0 a 9, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Escala de notas para avaliação de severidade de ataque de *S. frugiperda* no cartucho do milho (DAVIS et al., 1992)

Nota	Descrição
0	Planta sem dano
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 3,0 cm)
5	Planta com 1 a 3 lesões alongadas grandes (maior que 3,0 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 (maiores que 3,0 cm) em 2 ou mais folhas; mais 1 a 3 furos grandes (maiores que 1,5 cm) em 2 ou mais folhas
7	Planta com 3 a 5 lesões alongadas grandes (maiores que 3,5 cm) em 2 ou mais folhas; mais 3 a 5 furos grandes (maiores 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 3,0 cm em muitas folhas
9	Planta com muitas folhas, na quase totalidade, destruídas

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

3.3 Mortalidade e consumo de lagartas de *P. sequax* de 3º e 5º ínstar em milho Bt

Foram avaliados os oito genótipos do Experimento A (ítem 3.1) (Tabela 1). O estudo foi iniciado quando as plantas atingiram o estágio V4 (RITCHIE et al., 1993), quando discos foliares com área conhecida (7 cm²), de cada tratamento, foram coletados na parte mediana do limbo das folhas expandidas, com um vazador circular. Esses discos foliares foram colocados em placas de Petri (10 cm de diâmetro), revestidas, no fundo interno, com papel filtro umedecido com água destilada. Para cada placa, com o auxílio de um pincel fino, foi transferida uma lagarta de *P. sequax*. Foram testados dois ínstars larvais: 3º e 5º, visando reproduzir pelo menos duas situações naturais de ocorrência a campo, uma vez que as infestações iniciais em milho são provenientes do cultivo de inverno antecedente, geralmente aveia preta dessecada. Diariamente, o alimento e o papel filtro eram trocados e a placa era limpa, higienizada e, se necessário, umedecida, para evitar ressecamento das folhas e também excesso de umidade.

As partes não consumidas dos discos eram retiradas e guardadas em pacotes de papel, devidamente identificados e armazenados em geladeira, para posterior medição, com o auxílio de um integralizador de área (Scanner – modelo LI3050A). Por subtração da área total oferecida inicialmente, estimou-se o consumo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (8 tratamentos x 2 ínstars larvais), com 5 repetições para lagartas em 3º ínstar e 4 repetições, para lagartas em 5º

ínstar. Considerou-se como unidade experimental um conjunto de dez placas (dez lagartas por repetição), perfazendo total de cinquenta e quarenta indivíduos por tratamento, respectivamente, para cada ínstar.

Foram avaliados a área foliar consumida, número de lagartas mortas e o tempo até a morte. A obtenção dos dados decorreu de observações e registros realizados aos 1, 2 e 3 dias após a infestação e depois a cada dois dias durante 30 dias para larvas de 3º ínstar e 16 dias, para lagartas de 5º ínstar.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade de erro. Os dados relacionados à mortalidade de lagartas e ao consumo foliar foram transformados por $\sqrt{x+1}$. Complementarmente, realizou a análise de regressão entre mortalidade e o tempo (dias), para a estimativa de velocidade de ação (coeficiente angular) das tecnologias Bt.

3.4 Mortalidade e consumo de lagartas de *H. armigera* de 1º e 4º ínstar em soja Bt e não Bt

Este experimento foi conduzido para avaliar o efeito de diferentes órgãos das plantas, de cultivares de soja MON87701 x MON89788 e não Bt, sobre diferentes estádios de desenvolvimento das lagartas, através da análise de mortalidade e tempo até a morte, e de consumo de lagartas de *H. armigera*, em dois ínstars de desenvolvimento distintos, 1º (neonatas) e 4º.

O cultivar de soja Bt foi o AS 3570 IPRO RR2, que expressa a proteína Cry1Ac, o não Bt foi o BMX Potência RR. As três

estruturas das plantas oferecidas às lagartas de 1º e de 4º ínstar foram folhas novas, folhas velhas e legumes. Considerou-se folhas novas, aquelas do terço superior da planta, tenras, verde-claras, com aproximadamente uma semana após a completa abertura dos folíolos; folhas velhas, aquelas do terço inferior, mais duras e verde-escuras, com mais de três semanas da completa abertura; e, legumes, aqueles entre os estádios 5.4 e 5.5 (FEHR & CAVINESS, 1977).

As plantas foram cultivadas em vasos, em casa de vegetação, de onde foram coletadas folhas (novas e velhas) e legumes. Discos foliares de área conhecida (1, 4 e 7 cm²), produzidos com auxílio de vazador, e legumes, foram oferecidos às lagartas, individualizadas em placas de Petri, no laboratório. Inicialmente, disponibilizou-se um disco foliar de menor tamanho e, à medida da necessidade, foram sendo oferecidos mais e maiores discos foliares. A mesma lógica foi seguida para os legumes, oferecendo, inicialmente, uma unidade e aumentando o número conforme a necessidade

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com cinquenta repetições (lagartas). Na impossibilidade de comparar consumo de folhas com o dano em legumes foram avaliados de forma diferente. A análise estatística foi realizada de duas maneiras: a) fatorial 2 (cultivar de soja Bt e não Bt) x 2 (1º e 4º ínstar) para danos em legumes e b) fatorial 2 (cultivar de soja Bt e não Bt) x 2 (1º e 4º ínstar) x 2 (folha nova e velha) para as demais variáveis.

Avaliou-se consumo foliar, danos em legumes, número de lagartas mortas e tempo necessário para morrer. Na avaliação de

danos em legumes, elaborou-se escala de notas em função do tipo de alimentação que os insetos apresentaram (Tabela 3).

Tabela 3 - Escala de notas (0 a 6) para avaliação do dano em legumes de soja por lagartas de *H. armigera*. FAMV-UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Nota	Descrição
0	Sem danos (sem consumo)
1	Danos leves e superficiais do tegumento (raspagem), sem atingir grãos
2	Danos (consumo) do tegumento, sem atingir os grãos
3	Danos (consumo parcial) em 1 grão
4	Danos (consumo parcial) em 2 grãos
5	Danos (consumo parcial) em 3 grãos
6	Danos severos (consumo de 100% do legume e dos grãos)

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Os dados relacionados à mortalidade de lagartas e de tempo até a morte foram transformados por \sqrt{x} , e os de consumo, foliar e de legumes, por $\sqrt{x+1}$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Incidência e severidade de ataque de *S. frugiperda* em milho Bt

4.1.1 Experimento A

A incidência natural de lagartas de *S. frugiperda* foi diferente entre as tecnologias Bt de milho (Tabela 4). O genótipo não Bt (testemunha) foi aquele em que se observou maior ocorrência de lagartas (96,4%). A melhor performance foi do evento MON89034 x TC1507 x NK603, com menor incidência de lagartas, todavia, não diferiu de MIR162, MON89034, Bt11 x MIR162 x GA21 e TC1507, com variações entre 75,3 e 63,7%. Os demais genótipos se comportaram de forma intermediária e inconclusiva. As tecnologias Bt11 e TC1507 x MON810 x NK603 não diferiram da testemunha. Mendes & Waquil (2009) garantem que, em condições de campo, é normal encontrar respostas diferenciadas em relação ao controle de *S. frugiperda* utilizando distintas tecnologias Bt. Fearing et al. (1997) verificaram diferenças na expressão de toxinas em diferentes tecidos da planta de milho e, também, entre genótipos.

De forma geral, os eventos piramidados caracterizaram-se pelo aumento no nível de proteção da planta Bt à praga-alvo, concordando com estudos de Storer et al. (2012), como é o caso do evento MON89034 x TC1507 x NK603. Moar & Anilkumar (2007) consideram a piramidação como forma de avanço na biotecnologia, isso porque confere modo de ação independente e único, podendo retardar o estabelecimento de populações de insetos resistentes

(HEAD & GREENPLATE, 2012). Em comparação com a primeira geração de eventos Bt, a piramidação se mostra mais eficaz no controle de algumas espécies de noctuídeos, incluindo *S. frugiperda* (BURKNESS et al., 2010; YANG et al., 2013a; YANG et al., 2013b). Isso fica evidente quando se analisa a resposta de Bt11, que expressa somente uma proteína entomotóxica, e não mostrou diferença da testemunha não Bt com relação à incidência de *S. frugiperda*.

Tabela 4 - Incidência natural (%) e severidade de ataque de lagartas de *S. frugiperda* em tecnologias Bt de milho – Experimento A. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

Evento Bt	Incidência	Severidade ¹
Não Bt	96,4 ± 1,48 a	6,0 ± 0,25 a
Bt11	89,6 ± 2,06 ab	4,8 ± 0,13 ab
TC1507 x MON810 x NK603	84,0 ± 3,22 abc	3,8 ± 0,06 bc
MIR162	75,3 ± 2,33 bcde	3,8 ± 0,14 bc
MON89034	73,3 ± 2,84 bcde	3,6 ± 0,04 bc
Bt11 x MIR162 x GA21	68,8 ± 2,93 cde	3,8 ± 0,03 bc
TC1507	63,7 ± 2,46 de	3,5 ± 0,08 bc
MON89034 x TC1507 x NK603	56,2 ± 2,60 e	3,2 ± 0,06 c
Média	75,9	4,1
C.V. (%)	14,9	14,2

Médias ± erro padrão (EP) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$). ¹ Escala Davis (0 a 9).

A severidade de ataque, medida pela escala Davis, foi maior na testemunha não Bt, que diferiu de MON89034 x TC1507 x NK603, sofrendo menores injúrias pela praga, evidenciando poucas lesões circulares ou indefinidas de até 1,3 cm nas folhas expandidas e novas, enquanto na testemunha, as lesões foram maiores que 2,5 cm, e presentes em várias folhas expandidas e novas (Tabela 2). A tecnologia Bt11 apresentou nota de dano igual ao híbrido não Bt, evidenciando possível redução na efetividade de controle. As

tecnologias YH, MIR162, MON89034, Bt11 x MIR162 x GA21 e TC1507 não diferiram de MON89034 x TC1507 x NK603 nem de Bt11 quanto à severidade. Waquil et al. (2002) confirmam que em condições de alta pressão de infestação, a proteína Cry1Ab, expressa pela tecnologia Bt11, promove controle parcial de *S. frugiperda*. Em complemento, Waquil et al. (2013) concordam que a proteína Cry1Ab diminui os danos da lagarta-do-cartucho, no entanto, exige monitoramento para decisão de utilização complementar de controle químico. De acordo com Fernandes et al. (2003), o milho MON 810, que expressa a proteína inseticida Cry1Ab, oferece níveis elevados de controle de *Diatraea saccharalis* (CASTRO et al., 2004) e moderados de *H. zea* e *S. frugiperda*, concordando com os resultados deste trabalho.

Entre híbridos transgênicos avaliados por Moraes et al. (2015), a menor nota de dano foi atribuída aos híbridos contendo a tecnologia Viptera® (MIR162), Herculex® (TC1507) e YieldGard® (MON89034). Assim como neste trabalho, Michelotto et al. (2011) constataram que a tecnologia Herculex® (TC1507) apresenta as menores notas de dano, em comparação a YieldGard® (MON89034) e Agrisure TL® (Bt11). Mendes et al. (2008) observaram que em híbridos Bt houve predomínio de plantas com nota zero de dano, o que não foi evidenciado neste estudo, indicando que, com o passar dos anos, a efetividade das proteínas Bt diminui.

Nesse estudo não foram utilizadas as mesmas bases genéticas para avaliação da eficiência de controle da tecnologia Bt. Isso pode mascarar algum indicativo de resistência por antixenose ou antibiose em relação à lagarta-do-cartucho, independente da expressão

de proteína Bt. Mendes et al. (2011) concluíram que existe interação entre a toxina Cry1Ab e a base genética dos híbridos transgênicos.

4.1.2 Experimento B

Da mesma forma que no Experimento A, houve menor incidência de lagartas *S. frugiperda* no milho Bt comparado ao não Bt (Tabela 5). No entanto, somente se constatou diferença significativa entre a testemunha e as tecnologias TC1507 e MON89034 x TC1507 x NK603, as quais ainda tiveram incidência que pode ser considerada alta. Os demais tratamentos ficaram em posições intermediárias.

Tabela 5 - Incidência natural (%) e severidade de ataque de lagartas de *S. frugiperda* em tecnologias Bt de milho – Experimento B. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

Evento Bt	Incidência	Severidade ¹
Não Bt	96,6 ± 0,37 a	6,7 ± 0,01 a
TC1507 x MON810 x NK603	94,3 ± 0,34 ab	3,9 ± 0,06 b
MON89034	85,0 ± 0,33 abc	3,9 ± 0,08 b
MIR162	82,9 ± 0,57 abc	2,7 ± 0,04 bc
Bt11 x MIR162 x GA21	82,2 ± 0,85 abc	3,4 ± 0,02 bc
TC1507	79,0 ± 0,67 bc	2,9 ± 0,04 bc
MON89034 x TC1507 x NK603	72,5 ± 1,50 c	2,2 ± 0,09 c
Média	84,6	3,7
C.V. (%)	8,1	14,8

Médias ± EP seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$). ¹ Escala Davis (0 a 9).

Waquil et al. (2002), ao avaliarem a eficiência de nove híbridos Bt à *S. frugiperda*, nos Estados Unidos, observaram diferentes níveis de resistência, e consideraram as toxinas Cry1F,

Cry1Ab, Cry1Ac e Cry9C altamente resistente, resistente, moderadamente resistente e suscetível, respectivamente. Contudo, em contraponto, recentemente foi documentado controle reduzido de *S. frugiperda* em milhos portadores de proteínas Cry1F (TC1507) no Brasil (FARIAS et al., 2014) e no sudeste dos EUA (HUANG et al., 2014). Considerando os resultados encontrados nesse trabalho, de incidência e superior a 72%, há indícios que a eficiência de todas as tecnologias Bt testadas foi drasticamente reduzida.

Constatou-se que a severidade de dano de todas as tecnologias Bt foi inferior à testemunha não Bt, com variação na escala Davis entre 2,2 e 3,9. As menores notas de dano foram das tecnologias TC1507 e MON89034 x TC1507 x NK603, que mesmo apresentando incidência de lagartas relativamente elevada, foram pouco injuriadas. Conforme Waquil et al. (2002), mesmo em híbridos de milho transgênicos, é esperada alguma perfuração foliar leve, uma vez que, para ser controlado, o inseto deve ingerir a toxina. Contudo, Farias et al. (2014) afirmam que *S. frugiperda* tem causado prejuízos econômicos significativos em híbridos de milho TC1507 no oeste baiano, devido a evolução da resistência.

Mediante estudos no laboratório, na casa-de-vegetação e no campo foi observado que o milho Bt contendo proteína VIP foi eficaz no controle da lagarta-do-cartucho (BURKNESS et al., 2010; YANG et al., 2013b; NIU et al., 2014; HUANG et al., 2014). Bernardi et al. (2015) concluíram que a frequência inicial de alelos de resistência à toxina Vip3Aa20 em populações de *S. frugiperda* é baixa, e atende a um dos principais pressupostos de estratégias de manejo da resistência. Talvez em função disso, as tecnologias de

milho portadoras da proteína Vip3Aa20 (MIR162 e Bt11 x MIR162 x GA21) apresentem menor incidência e severidade de ataque de *S. frugiperda*, assim como MON89034 x TC1507 x NK603, que se trata de um evento piramidado, ou seja, que expressa duas ou mais proteínas de Bt na mesma planta (OMOTO & BERNARDI, 2015).

Em ambos os experimentos (A e B), a tecnologia MON89034 x TC1507 x NK603 se destacou apresentando menor incidência e severidade de ataque de *S. frugiperda*, independentemente da base genética do cultivar. O híbrido não Bt se posicionou no outro extremo, com incidência e severidade mais elevadas.

4.2 Mortalidade e consumo de lagartas de *P. sequax* de 3º e 5º ínstar em milho Bt

A mortalidade de lagartas foi influenciada pelas tecnologias Bt de milho testados (Tabela 6). Não houve interação entre ínstar e híbridos, evidenciando que o estágio larval não exerceu influência sobre a ação das tecnologias Bt.

A maior mortalidade ocorreu na tecnologia MON89034 x TC1507 x NK603 (97,5%) e a menor em TC1507 (61,5%). As tecnologias Bt11 x MIR162 x GA21, MIR162, TC1507 x MON810 x NK603, MON89034 e Bt11 apresentaram mortalidade intermediária, que variou de 83,7 a 8,5%, sem diferir de MON89034 x TC1507 x NK603 e de TC1507.

Tabela 6 - Mortalidade (%) de lagartas de 3° e 5° ínstars de *P. sequax* alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

Evento	Ínstar		Média
	3°	5°	
MON89034 x TC1507 x NK603	100,0 ± 0,00	95,0 ± 2,89	97,5 a
Bt11 x MIR162 x GA21	97,5 ± 2,89	92,5 ± 4,79	95,0 ab
TC1507 x MON810 x NK603	85,0 ± 6,45	97,5 ± 2,50	91,2 ab
MON89034	85,0 ± 5,00	90,0 ± 10,00	87,5 ab
MIR162	75,0 ± 15,55	95,0 ± 2,89	85,0 ab
Bt11	77,0 ± 13,15	90,0 ± 4,08	83,7 ab
TC1507	55,0 ± 23,27	67,5 ± 11,09	61,5 b
Não Bt	25,0 ± 13,23	5,0 ± 5,00	15,0 c
Média	74,9	79,0	77,0
C.V. (%)	17,4		

Médias ± EP seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

P. sequax pode ser uma importante praga de milho (WEBSRER & MALLY, 1898; WALTON, 1916; SALVADORI & PARRA, 1990a; GASSEN, 1994; WILLSON & STINNER, 1994; JIANG et al., 2011), embora não seja alvo principal das tecnologias Bt. Danos significativos causados por *M. unipuncta* têm sido relatados em diferentes eventos transgênicos de milho Bt (EIZAGUIRRE et al., 2010; PILCHER et al., 1997; SCHAAFSMA et al., 2007). Contudo, com o presente trabalho percebe-se que as tecnologias Bt disponíveis no mercado, desde as de primeira geração até os eventos piramidados, com exceção daquela que expressa a proteína Cry1F (TC1507), proporcionam mortalidade relevante, superior a 83%, já que *P. sequax* não está entre as pragas alvo e não serviu de base no desenvolvimento da tecnologia. Desta forma, ao adquirirem sementes de milho resistente a insetos, principalmente a *S. frugiperda* e *D. saccharalis*,

os produtores são beneficiados com o controle parcial de lagartas de *P. sequax*.

Resultados de Gonzáles-Cabrera et al. (2013) diferiram dos obtidos neste estudo, mostrando que as tecnologias de milho Bt na Espanha mostram baixa eficácia de controle para lepidópteros-praga secundários, como *M. unipuncta*. Da mesma forma, García et al. (2015) demonstraram que híbridos de milho expressando a toxina Cry1Ab tem baixa eficácia para controlar alguns lepidópteros-praga secundários como *M. unipuncta* e *H. armigera*.

Wang et al. (2009) e Zhao et al. (2011) levantaram preocupação de que pragas secundárias possam se tornar problema em virtude da implantação de culturas Bt. Gonzáles-Cabrera et al. (2013) descobriram que a resistência de larvas *M. unipuncta* ao milho Bt aumenta rapidamente quando sua criação acontece na cultura geneticamente modificada. Cerca de 1-2% de larvas neonatas de *M. unipuncta* alimentadas com milho expressando a proteína Cry1Ab conseguem completar o ciclo de vida (GARCÍA et al., 2015). Tais evidências são consideradas preocupantes para o cenário produtivo do Brasil, uma vez que, lagartas grandes de *P. sequax*, presentes na aveia preta comumente permanecem no sistema depois da dessecação, atacando plântulas de milho em sucessão.

Presumivelmente, mesmo que o nível de mortalidade de lagartas alimentadas com tecnologias Bt seja alto, não é próximo a 100%. Dessa forma, os resultados indicaram que a concentração de proteínas Bt expressas pelos híbridos de milho possa representar “baixas doses” (PRUTZ & DETTNER, 2004), ou também, concentrações subletais, que favorecem a evolução da resistência em

populações de campo (JANMAAT et al., 2014), pois indivíduos conseguem completar seu ciclo de vida, mesmo alimentando-se de plantas expressando entomotoxinas. Percebe-se que, algumas das tecnologias transgênicas, especialmente as de primeira geração, como TC1507, possibilitam maior percentual de sobrevivência de lagartas, favorecendo a pressão de seleção.

Assim como neste trabalho, Ruthes (2012) observou que *P. sequax*, pode ocasionar danos, mesmo com a utilização do milho Bt TC1507, o que ele não constatou para *S. frugiperda*. Essa variação de eficiência de controle da tecnologia Bt entre diferentes espécies de lepidópteros ocorre devido as toxinas de *B. thuringiensis* exercerem sua ação letal por meio da ligação a receptores no intestino médio, que são diferentes em cada espécie (WANG et al., 2013).

Embora os resultados deste trabalho não tenham indicado diferença de sensibilidade às toxinas entre os estádios larvais 3º e 5º de *P. sequax*, Pilcher et al. (1997) observaram que lagartas neonatas da mesma espécie, não sobrevivem ao milho Bt, enquanto os últimos ínstaros apresentam menor suscetibilidade. Valadez-Lira et al. (2012) afirmaram que larvas mais desenvolvidas são mais tolerantes ao Bt. Wang et al. (2005) constataram que *M. separata* é mais suscetível às toxinas Cry1Ab durante o quarto ínstar. Outros autores complementam assegurando que larvas de quarto ínstar têm controle reduzido e menor atraso no desenvolvimento que larvas de sexto ínstar, quando alimentadas com plantas Bt (BAUCE et al., 2002; VOLNEY & CERESZKE, 1992; PEDERSEN et al., 1997). A menor suscetibilidade de lagartas em ínstaros intermediários acontece, de acordo com Van Frankenhuyzen et al. (1997), devido ao aumento de

20 vezes na taxa potencial de alimentação no 4º ínstar e de 4,5 vezes no 6º ínstar, influenciando diretamente a LD50 requerida por larva.

Constatou-se, no presente estudo, que o tempo para a morte das lagartas de *P. sequax* não sofre influência da interação entre as tecnologias Bt e os ínstares em que se encontram (Tabela 7). As lagartas levaram mais tempo para morrer após alimentação com milho MON89034 x TC1507 x NK603 (9,1 dias), Bt11 e TC1507 (ambos com 7,9 dias), porém não diferindo das tecnologias MON89034 e TC1507 x MON810 x NK603. Maior velocidade de ação foi evidenciada nas lagartas alimentadas com Bt11 x MIR162 x GA21 (4,3 dias) e MIR162 (4,5 dias), e híbrido não Bt. Presume-se, que a velocidade mais rápida de morte das lagartas no híbrido não Bt, demonstre a falta de adaptabilidade imediata à parcela experimental. No entanto, como evidenciado na Tabela 6, o percentual de mortalidade no híbrido convencional foi inferior aos demais tratamentos.

Em observações durante o trabalho, percebeu-se que muitas das lagartas cessaram alimentação pouco tempo depois de ingerir folhas de milho Bt, provavelmente por ter havido intoxicação, mas ainda assim, levaram algum tempo para morrer. No entanto, é necessário investigar com precisão essa informação.

Em campo, independente do estágio, o prolongamento da fase larval, ou mesmo, a intoxicação e paralização de movimentos, pode ter efeitos negativos sobre a população de insetos, devido à maior exposição a inimigos naturais (WESELOH & ANDREADIS, 1982). Ainda, presume-se que lagartas intoxicadas, mesmo vivas, não tenham potencial para causar injúrias foliares expressivas.

Tabela 7 - Tempo de vida (dias) de lagartas de 3° e 5° ínstar de *P. sequax* alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

Evento	Ínstar		Média	
	3°	5°		
MON89034 x TC1507 x NK603	8,8 ± 1,01	9,4 ± 0,17	9,1 ± 0,60	a
Bt11	7,9 ± 0,50	8,0 ± 0,22	7,9 ± 0,60	a
TC1507	8,9 ± 0,21	6,9 ± 0,18	7,9 ± 1,80	a
MON89034	7,5 ± 3,25	7,8 ± 0,35	7,6 ± 0,84	ab
TC1507 x MON810 x NK603	4,4 ± 0,40	7,4 ± 0,11	5,9 ± 0,26	abc
MIR162	3,2 ± 0,08	5,8 ± 1,59	4,5 ± 0,37	bcd
Bt11 x MIR162 x GA21	3,6 ± 0,88	4,6 ± 0,31	4,3 ± 0,20	cd
Não Bt	3,6 ± 1,46	0,1 ± 0,11	1,9 ± 0,69	d
Média	5,9	6,2	6,1	
C.V. (%)	38,6			

Médias ± erro padrão (EP) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Complementarmente, os resultados da regressão linear indicaram, pela maior inclinação da reta (coeficiente angular), que nas lagartas de 3° ínstar de *P. sequax*, as proteínas entomotóxicas expressas pela tecnologia Bt11 x MIR162 x GA21, tem ação tóxica mais rápida (Figura 1). Nessa tecnologia, mortalidade de 100% das lagartas foi atingida em, aproximadamente, 5 dias.

O evento MON89034 x TC1507 x NK603 também proporcionou 100% de mortalidade, no entanto, isso aconteceu somente 23 dias após a infestação, reforçando a informação expressa na Tabela 7. Em TC1507 x MON810 x NK603, as lagartas atingiram 90% de mortalidade em 10 dias. MON89034 e Bt11 apresentaram comportamento semelhante, de 85 e 80% de mortalidade, respectivamente em, aproximadamente, 21 dias. No evento MIR162, a mortalidade também foi elevada (80%), contudo em menor período de tempo (12 dias).

O menor percentual de mortalidade de lagartas foi evidenciado por TC1507 (60%), em 30 dias após a infestação (coeficiente angular = 2,0), enquanto que na testemunha não Bt o valor do coeficiente angular foi de 0,5.

Assim como nesse trabalho, Barbosa et al. (2012) concluíram que a tecnologia Bt11 x MIR162 x GA21 foi a mais efetiva no controle de *H. zea*. Peterlini et al. (2014) comprovaram que essa mesma tecnologia causou 100% de mortalidade em *S. frugiperda*, dois dias após a alimentação.

Também para lagartas de 5º ínstar, a inclinação da reta na tecnologia Bt11 x MIR162 x GA21 foi superior (coeficiente angular = 20,0) (Figura 2). Também se destacaram as tecnologias MIR162 (14,7), Bt11 (13,2) e TC1507 x MON810 x NK603 (13,0), com mortalidade se aproximou de 100%, em 7, 9, 11 e 11 dias após a infestação, respectivamente. Esses resultados indicam que as proteínas dessas tecnologias têm maior velocidade de ação, depois de ingeridas pelas lagartas. Mortalidade elevada também foi proporcionada por MON89034 (90%) e MON89034 x TC1507 x NK603 (95%), no entanto, o tempo até a morte dos insetos foi bastante prolongado, de 14 e 20 dias, respectivamente. A tecnologia TC1507, assim como para lagartas menores (Figura 1), também não demonstrou bom potencial de controle, atingindo mortalidade próxima a 65%, aos 17 dias após a infestação.

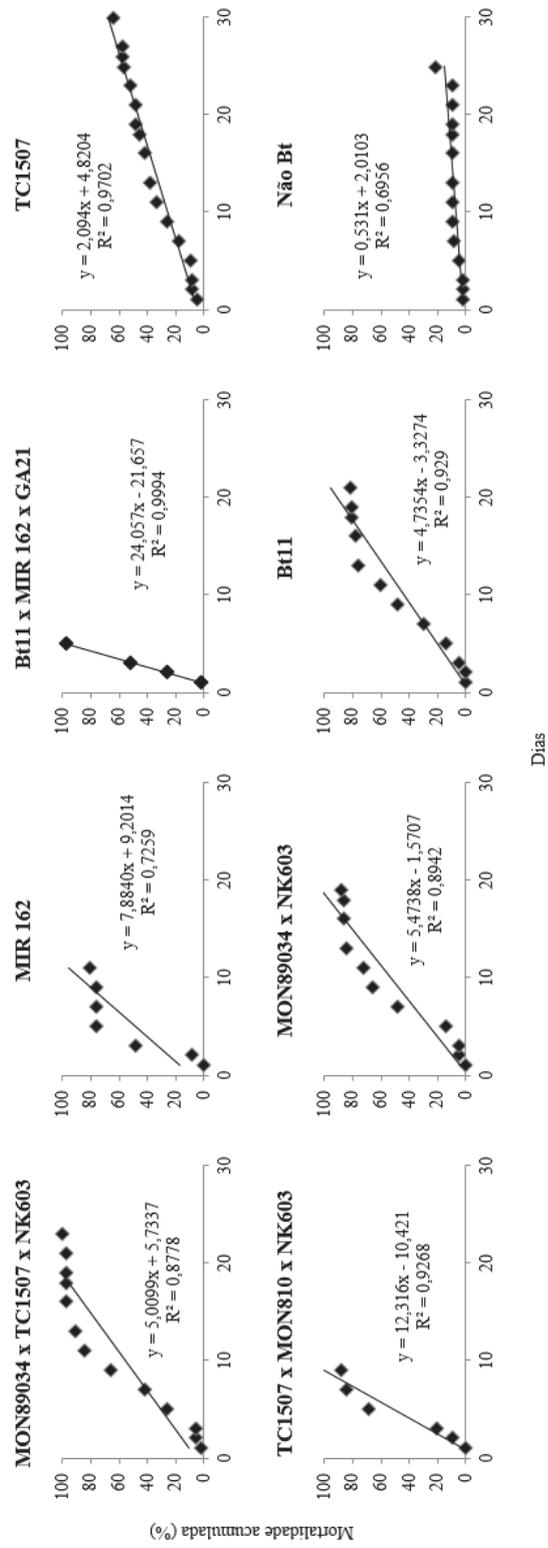


Figura 1 – Mortalidade acumulada de lagartas de 3º instar de *P. sequeax* alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt, em função de dias após a infestação. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

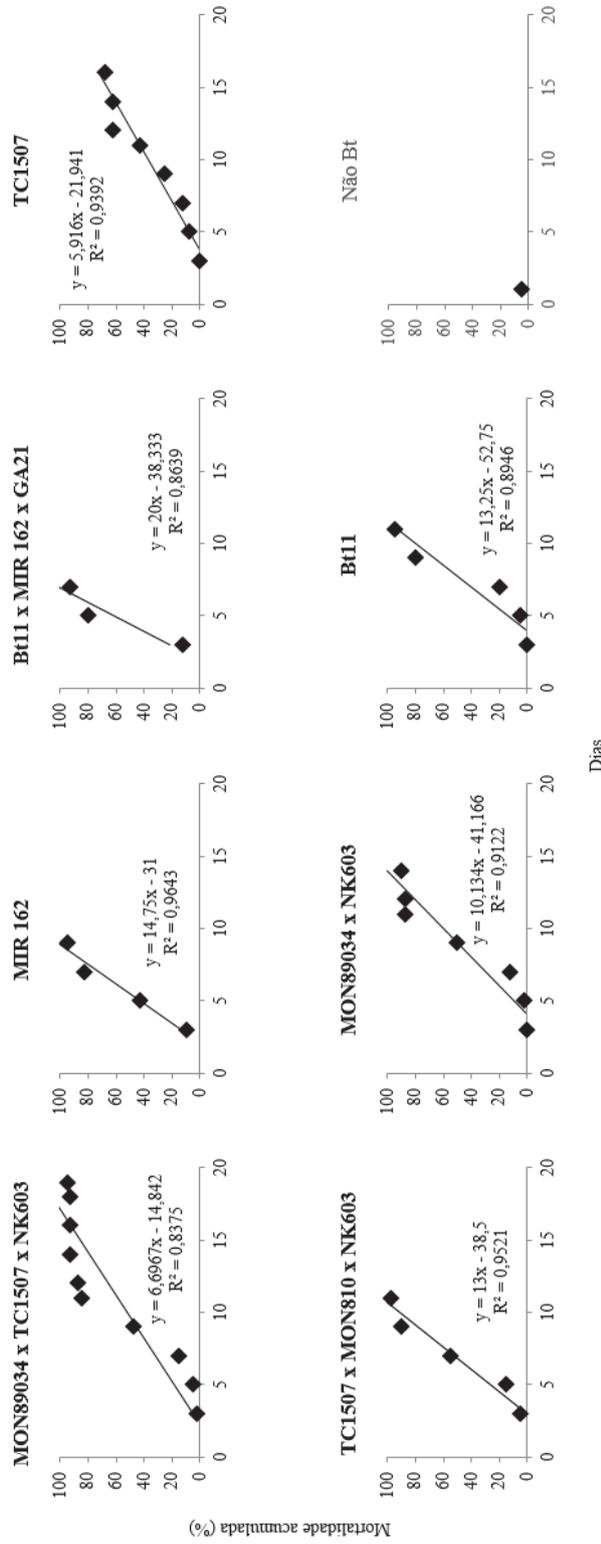


Figura 2 – Mortalidade acumulada de lagartas de 5º instar de *P. sequeax* alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt, em função de dias após a infestação. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

De acordo com Mendes et al. (2009), a mortalidade das larvas não ocorre completamente nas primeiras 48 horas após ingestão da toxina Bt na planta. Ela se distribui durante todo o período de desenvolvimento dos insetos. Talvez isso explique o comportamento das lagartas que, ao ingerirem os milhos Bt MON89034 x TC1507 x NK603 e MON89034, tiveram percentual de mortalidade alto, no entanto, levaram vários dias para morrer.

Lima & Assmann (2015) atribuíram a melhor eficiência de controle de lagartas por Bt11 x MIR162 x GA21 e MON89034 x TC1507 x NK603 à piramidação de genes. Os eventos contendo somente uma proteína inseticida tendem a ter menor eficiência no controle de lagartas (MICHELOTTO et al., 2014; LIMA & ASSMANN, 2015), conforme se observou na tecnologia TC1507 neste trabalho, que além disso, também enfrenta problemas de resistência de algumas espécies de lagarta (FARIAS et al., 2010).

Para consumo foliar, houve interação entre as tecnologias Bt e o ínstar das lagartas (Tabela 8). Lagartas de 3º ínstar consumiram menor área foliar nas tecnologias Bt11 x MIR162 x GA21 e MIR162 (ambas 16,1 cm²), no entanto, não diferiram de TC1507 x MON810 x NK603. O evento TC1507 igualou-se à testemunha não Bt, apresentando consumo 85,5% superior à Bt11 x MIR162 x GA21 e MIR162. Os demais, MON89034 x TC1507 x NK603, MON89034 e Bt11 classificaram-se de maneira intermediária, diferindo-se da testemunha e também das tecnologias com menor consumo. García et al. (2015) acreditam que a tolerância de lepidópteros a algumas toxinas Bt está relacionada às altas taxas de eliminação de toxinas e a rápida recuperação do epitélio do intestino médio.

Tabela 8 - Consumo foliar (cm²) de lagartas de 3^o e 5^o ínstar de *P. sequax* alimentadas com genótipos de milho Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2013

Evento	Ínstar			
	3 ^o		5 ^o	
Não Bt	133,4 ± 14,45	aA	100,6 ± 4,08	aB
TC1507	111,3 ± 14,60	aA	74,8 ± 5,93	bB
Bt11	64,5 ± 2,15	bA	42,1 ± 4,36	cB
MON89034	62,5 ± 0,19	bA	42,7 ± 1,58	cB
MON89034 x TC1507 x NK603	51,3 ± 1,26	bA	37,7 ± 2,31	cA
TC1507 x MON810 x NK603	39,9 ± 1,00	bcA	24,3 ± 0,73	cdA
MIR162	16,1 ± 0,04	cA	19,1 ± 0,60	cdA
Bt11 x MIR162 x GA21	16,1 ± 0,05	cA	3,5 ± 0,78	dA
Média	61,9		43,1	
C.V. (%)			24,0	

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

As lagartas de 5^o ínstar apresentaram comportamento pouco diferenciado em relação às tecnologias Bt em teste. No evento Bt11 x MIR162 x GA21 houve o menor consumo, no entanto, não diferiu de MIR162 e TC1507 x MON810 x NK603. Em seguida, vieram os genótipos MON89034 x TC1507 x NK603, MON89034 e Bt11, onde as lagartas consumiram de 37,6 a 42,6 cm² de folhas. Entre os híbridos portadores de proteínas Bt, TC1507 foi o mais consumido pelas lagartas (74,7 cm²), contudo, ainda foi diferente da testemunha.

Nas tecnologias TC1507, MON89034, Bt11 e testemunha, as lagartas de 5^o ínstar consumiram menor área foliar quando comparadas às de 3^o ínstar. No restante dos tratamentos, não houve diferença entre ínstar. Segundo Bauce et al. (2002), isso pode acontecer pois a eficiência de utilização do alimento é mais afetada

quando ocorre a ingestão de milho Bt no final da fase larval, devido à falta de tempo para recuperação das lesões intestinais.

Pérez-Hedo et al. (2012) ofereceram folhas de milho Bt para indivíduos de *M. unipuncta* e *H. armigera* e observaram que o consumo acontece, no entanto, a toxina é rapidamente eliminada da membrana peritrófica intestinal. Tanaka et al. (2012) defendem que o efeito intestinal das toxinas Bt depende da concentração e da capacidade do hospedeiro em reparar os danos no mesêntero.

Prutz & Dettner (2004) acreditam que o cessamento de alimentação das larvas de lepidópteros em plantas Bt resulta, especialmente, da paralisia que ocorre no intestino o que retarda a passagem do material vegetal ingerido. Isso foi evidenciado, especialmente, nas tecnologias Bt11 x MIR162 x GA21 e MIR162, nas quais a velocidade de ação das entomotoxinas foi maior, resultando em menor consumo foliar. Por outro lado, Wheeler & Halpern (1999) acreditam que insetos herbívoros podem responder adaptativamente a mudanças no seu ambiente, alterando, inclusive, o consumo alimentar e a eficiência de utilização, de modo a mitigar efeitos negativos (JAEGER et al., 2013).

Estudos que examinaram os efeitos da exposição de lepidópteros-praga a baixas doses de toxinas Bt evidenciaram maior tempo de desenvolvimento (ARSHAD & SUHAIL, 2011), redução no ganho de peso (KULLIK et al., 2011) e menor consumo e eficiência na utilização do alimento (RAMALHO et al., 2011).

De forma geral, percebeu-se que as tecnologias Bt piramidadas, e as de última geração, apresentaram melhores resultados de controle de *P. sequax*, quando comparadas com eventos que

expressam somente uma proteína inseticida. Isso também é observado para lagartas de *S. frugiperda*, para a qual estudos apontam para redução de eficiência de proteínas Cry1F (HX) (FARIAS et al., 2014; STORER et al., 2012) e Cry1Ab (Bt11) (RUTHES, 2012; HARDKE et al., 2010). Contudo, já que *P. sequax* não foi uma praga alvo no desenvolvimento das tecnologias Bt de milho, considera-se os resultados de controle relativamente satisfatórios, semelhantes à *S. frugiperda*.

4.3 Mortalidade e consumo de lagartas de *H. armigera* em soja Bt e não Bt

Com relação à mortalidade, constatou-se interação entre os fatores avaliados (ínstares, cultivares e estruturas de soja) (Tabelas 9, 10 e 11). A mortalidade de lagartas neonatas de *H. armigera* alimentadas com soja MON87701 x MON89788 não diferiu quando comparada com a da soja convencional, não Bt (Tabela 9). Já em lagartas maiores, de 4º ínstar, a mortalidade foi 42,7% superior no cultivar de soja MON87701 x MON89788, resistente a lagartas. Dias et al. (2015) consideram, em geral, que em genótipos suscetíveis, a mortalidade de lagartas não deve ser superior a 20%. Entretanto, em soja não Bt, neste trabalho, a porcentagem de lagartas mortas variou de 56,6 até 79,3%. Isso pode indicar que folhas de soja não representem a estrutura alimentar preferencial de *H. armigera* (DIAS et al., 2015), especialmente em ínstares iniciais.

Tabela 9 - Mortalidade (%) de lagartas de 1º e 4º ínstar de *H. armigera* alimentadas com cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Ínstar	Cultivar		Média
	Bt	Não Bt	
1º	85,3 ± 7,99 bA	79,3 ± 6,91 aA	82,3
4º	98,6 ± 1,63 aA	56,6 ± 5,20 bB	77,6
Média	91,9	67,9	79,9
C.V. (%)	16,3		

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Em trabalho semelhante, Coelho (2015) observou que, quando alimentadas com soja transgênica expressando a proteína Cry1Ac, lagartas neonatas de *H. armigera* apresentaram mortalidade total, assim como as de *H. virescens* (BORTOLOTTO et al., 2014), o que não foi constatado nesse trabalho. Viana (2014) também observou 100% de mortalidade de larvas de *C. includens* alimentadas com algodão Cry1Ac. Sivasupramaniam et al. (2008) confirmam que plantas de soja que expressam Cry1Ac oferecem excelente proteção contra *H. armigera* durante todo o período vegetativo da soja.

Porém, segundo Gujar et al. (2007), existe considerável variação na suscetibilidade de larvas de *H. armigera* às toxinas Bt em diferentes locais e espécies de plantas. Paramasiva et al. (2014) atribuem isso à variação na microflora intestinal envolvida na alimentação dos insetos e na degradação da proteína Bt.

Outra constatação interessante foi que em soja MON87701 x MON89788, lagartas de 4º ínstar tiveram mortalidade superior a lagartas neonatas, na ordem de 13,4%. Isso pode ter acontecido em função do maior consumo de material Bt pelas lagartas

maiores (Tabela 13) e, conseqüentemente, de proteínas tóxicas. Em soja convencional o inverso aconteceu, lagartas de 1º ínstar apresentaram mortalidade 28,6% superior às de 4º ínstar.

Sanahuja et al. (2011) afirmam que bioestocidas a base de Bt geralmente são aplicados quando as larvas estão nos primeiros ínstaes, uma vez que quanto mais desenvolvidas, são mais tolerantes. Yeoh et al. (2011) explicam que isso acontece porque a relação entre a área da superfície do intestino médio e a massa corporal das lagartas diminui à medida que as larvas crescem, assim como os locais de ligação das toxinas de Bt também mudam. Estas mudanças podem diminuir o impacto negativo da soja MON87701 x MON89788 no intestino médio de larvas em ínstaes mais avançados (NIU et al., 2014).

A mortalidade de lagartas de 1º ínstar de *H. armigera* em soja, independentemente de expressar ou não proteínas entomotóxicas, não foi afetada pela estrutura de planta oferecida (folha nova, folha velha, legume) (Tabela 10). Contudo, em lagartas de 4º ínstar, observou-se mortalidade bastante elevada (98,0%), e superior, em folhas novas.

Analisando as estruturas da planta separadamente, observou-se, em folhas novas, maior percentual de lagartas mortas de 4º ínstar, 15% superior às neonatas. Em folhas velhas essa diferença não foi identificada. Entretanto, em legumes, verificou-se que a mortalidade de neonatas foi superior às de 4º ínstar. Evidentemente, essa mortalidade mais elevada em legumes pode estar relacionada à dificuldade de alimentação, indicando uma barreira física ou química. Nesse sentido, uma possibilidade é que a pilosidade e a dureza do

tegumento dos legumes tenham sido empecilho para mastigação para as lagartas menores, com as mandíbulas pouco desenvolvidas.

Tabela 10 - Mortalidade (%) de lagartas de 1º e 4º ínstaes de *H. armigera* alimentadas com diferentes estruturas de planta de soja. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Ínstar	Estrutura						Média
	Folha nova		Folha velha		Legume		
1º	83,0 ± 7,70	bA	77,0 ± 4,70	aA	88,0 ± 7,30	aA	83,3
4º	98,0 ± 1,22	aA	68,0 ± 2,00	aB	67,0 ± 5,81	bB	77,6
Média	90,0		72,5		77,5		80,4
C.V. (%)	16,3						

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Trabalho de Bortolotto et al. (2014) demonstra que larvas de *H. virescens* de 3º ínstar, espécie estreitamente relacionada com *H. armigera*, não conseguiram completar o desenvolvimento larval exclusivamente com legumes de soja, independentemente se eram Bt ou não. Sendo assim, provavelmente, as larvas precisem, quando pequenas, se alimentar de estruturas vegetativas tenras para, depois, buscar os legumes e completar o desenvolvimento (FARRAR & BRADLEY Jr, 1985; ROGERS & BRIER, 2010).

Contatou-se que a estrutura da planta de soja MON87701 x MON89788 em que a lagarta se alimenta (folhas novas, velhas e legumes), não exerce influência na mortalidade para a espécie *H. armigera* (Tabela 11). Isso confirma a constatação de Bernardi et al. (2013) e Bortolotto et al. (2014), que mesmo em estruturas mais velhas da planta (folhas velhas e legumes), a concentração da proteína inseticida é suficiente e eficaz no controle de lagartas de *H. virescens*.

Já em soja não Bt, a mortalidade é superior em folhas novas, seguida por legumes, e por último, folhas velhas.

Tabela 11 - Mortalidade (%) de lagartas de *H. armigera* alimentadas com diferentes estruturas de planta em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Cultivar	Estrutura						Média
	Folha nova		Folha velha		Legume		
Bt	91,0 ± 4,85	aA	95,0 ± 2,23	aA	90,0 ± 6,12	aA	92,0
Não Bt	89,0 ± 4,14	aA	50,0 ± 4,50	bC	65,0 ± 7,00	bB	66,3
Média	90,0		72,5		77,5		79,1
C.V. (%)	16,3						

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Observando o comportamento de mortalidade em folhas novas, percebe-se que não houve diferença entre soja MON87701 x MON89788 e convencional (Tabela 11). No entanto, tanto em folhas velhas quanto em legumes, a mortalidade de lagartas de *H. armigera* foi superior no cultivar Bt, na proporção de 47,3 e 27,7%, respectivamente, quando comparado ao cultivar não Bt.

Com relação ao tempo até a morte houve interação entre ínstar x cultivar e estrutura da planta x cultivar (Tabela 12). Tanto para lagartas de 1º como de 4º ínstar, o tempo de vida após alimentação com soja MON87701 x MON89788 foi mais curto (2,6 e 6,2 dias, respectivamente), em relação à soja não Bt. Em soja MON87701 x MON89788, a morte das lagartas neonatas (1º ínstar) ocorreu mais rapidamente do que em lagartas maiores (4º ínstar). Em soja não Bt essa diferença não se evidenciou.

Tabela 12 - Tempo de vida (dias) de lagartas de 1º e 4º ínstar de *H. armigera* alimentadas com diferentes estruturas de planta em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Ínstar	Cultivar		Média
	Bt	Não Bt	
1º	2,6 ± 0,25 bB	10,4 ± 1,04 aA	6,5
4º	6,2 ± 0,27 aB	12,7 ± 1,26 aA	9,4
Média	4,4	11,5	
Estrutura			
Folha nova	3,9 ± 0,16 aB	13,0 ± 0,73 aA	8,4
Folha velha	4,1 ± 0,18 aB	15,7 ± 1,09 aA	9,9
Legume	5,2 ± 0,43 aA	5,9 ± 0,91 bA	5,5
Média	4,4	11,5	
CV (%)	16,9		

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Bortolotto et al. (2014), ao analisarem o efeito da soja MON 87701 × MON 89788 em lagartas de *H. virescens*, concluíram que o impacto da toxina é superior em neonatas do que em lagartas grandes. Dutton et al. (2005) afirmam que a maior sensibilidade de larvas em estádios iniciais às toxinas Bt acontece devido a alterações na atividade de proteases intestinais. Porém, nesse trabalho, mesmo levando mais tempo para morrer, as lagartas de 4º ínstar apresentaram mortalidade elevada, de 98,6% (Tabela 9).

A velocidade de morte de lagartas, quando alimentadas com folhas novas e folhas velhas, oriundas de plantas Bt, foi maior do que quando alimentadas com as mesmas estruturas de soja não Bt, na ordem de 70,0 e 74,0%, respectivamente. Isso não aconteceu quando as lagartas foram alimentadas com legumes. Entre as estruturas de planta da soja MON87701 x MON89788, não houve diferença no

tempo que as lagartas levaram para morrer, havendo coerência com os resultados apresentados na Tabela 11, os quais demonstraram que não existe diferença de mortalidade entre as estruturas de plantas Bt. Contudo, no cultivar convencional, as lagartas que se alimentaram de legumes morreram mais rapidamente do que as alimentadas com folhas (novas e velhas).

De acordo com Fitt (1989), os tecidos mais jovens da soja são mais atraentes para as lagartas, muito provavelmente devido a serem mais palatáveis e terem maior valor nutricional. Em complemento, Duffield & Chapple (2001) verificaram que a maioria dos ovos de *H. armigera* é colocada nas folhas completamente expandidas, nos 20 cm superiores do dossel da soja, explicando o comportamento de alimentação preferencial de folhas novas. No entanto, esse trabalho mostra que, não havendo outra opção, o consumo de folhas mais velhas também acontece.

Bortolotto et al. (2014) relataram que larvas de *H. virescens*, espécie também pertencente à subfamília Heliothinae, quando alimentadas com folhas e legumes de soja MON 87701 × MON 89788, apresentaram 100% de mortalidade em menos de três dias, o que se assemelha aos resultados obtidos neste trabalho.

Quanto ao consumo foliar, houve significância somente para a interação entre instar x cultivar de soja (Tabela 13). O consumo foliar de soja MON87701 x MON89788 foi inferior ao de soja não Bt, tanto em lagartas de *H. armigera* de 1º instar (98,2% inferior) quanto de 4º instar (85,9% inferior). Além disso, constatou-se que larvas em 4º instar consumiram 97,8 e 83,4% mais folhas em soja, Bt e não Bt, respectivamente, quando comparadas com larvas neonatas.

Tabela 13 - Consumo foliar (cm²) de lagartas de 1º e 4º ínstars de *H. armigera* em cultivares de soja Bt e não Bt. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Ínstar	Cultivar	
	Bt	Não Bt
1º	0,3 ± 0,38 bB	16,6 ± 9,65 bA
4º	14,1 ± 2,72 aB	100,6 ± 4,39 aA
Média	7,2	58,6
CV (%)	35,5	

Médias ± EP seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Dutton et al. (2005) explicam que as toxinas Bt são deterrentes para larvas de lepidópteros e que larvas nos primeiros ínstars são mais sensíveis aos efeitos da toxina, tendendo a reduzir o consumo.

Vilela et al. (2014) verificaram que lagartas grandes (mais de 24 mm), de 5º e 6º ínstars, são mais prejudiciais, uma vez que consomem cerca de 50% de sua dieta nesses estádios de desenvolvimento.

Rogers & Brier (2010) mostram que lagartas de *H. armigera*, além de se alimentar das lâminas foliares da soja, consomem também nervuras, pecíolos, ponto de crescimento apical e gemas axilares, comprometendo a capacidade da planta em compensar os danos. Observações durante o experimento demonstram que, geralmente, a preferência das lagartas é pela lâmina foliar, mas que na falta de outro alimento, o consumo das nervuras e pecíolos também acontece. Reed (1965) e Wang & Li (1984) complementam afirmando que essa espécie de lagarta se alimenta de folhas e caules, contudo,

têm preferência por brotos, inflorescências, frutos e vagens, podendo causar danos na fase vegetativa e reprodutiva (DIAS et al., 2015).

Embora a espécie tenha se alimentado exclusivamente de folhas de soja, novas ou velhas, e conseguido completar o desenvolvimento, Guedes et al. (2013) afirmam que a de alimentação de lagartas de *H. armigera* é maior pelos legumes de soja.

O consumo de legumes pelas lagartas de *H. armigera* foi influenciado pelo ínstar no qual se encontravam e também pelo cultivar (Bt ou não Bt) (Tabela 14). Lagartas de 4º ínstar apresentaram média de consumo superior às neonatas (2,8 pontos na escala de 1 a 6). Conforme já esperado, o consumo no cultivar não Bt foi superior àquele evidenciado no cultivar Bt.

Tabela 14 – Danos em legumes¹ em cultivares de soja Bt e não Bt por lagartas de *H. armigera*, de 1º e 4º instares. FAMV/UPF, Passo Fundo/RS, 2015

Ínstar	Cultivar	
1º	0,4 ± 0,1 b	Bt 1,1 ± 0,5 b
4º	2,8 ± 0,6 a	Não Bt 2,0 ± 0,1 a
Média	1,6	Média 1,5
C.V. (%)	16,0	

Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$). ¹ Escala de 0 (sem danos) a 6 (danos severos).

Observou-se que as lagartas submetidas à alimentação com legumes de soja apresentaram comportamento de perfuração do tegumento, até atingir os grãos. Rogers & Brier (2010), descrevem que se trata de um hábito da espécie consumir as sementes em desenvolvimento, deixando o legume vazio na planta.

Bortolotto et al. (2014) observaram que lagartas *H. virescens* não concluíram o desenvolvimento quando alimentadas com legumes de soja, independente de conter ou não toxinas Bt. O que também foi evidenciado neste trabalho, muito provavelmente pela alimentação ter sido somente de legumes, não disponibilizando estruturas vegetativas em nenhum momento.

5 CONCLUSÕES

a) A incidência e a severidade de lagartas de *S. frugiperda* é menor na tecnologia MON89034 x TC1507 x NK603 em relação às demais avaliadas, em milho Bt;

b) a mortalidade de lagartas de 3º e de 5º de *P. sequax* é maior na tecnologia MON89034 x TC1507 x NK603 em relação às demais avaliadas, em milho Bt;

c) lagartas de *P. sequax* de 3º e de 5º ínstar morrem mais rapidamente quando se alimentam das tecnologias Bt11 x MIR162 x GA21 e MIR162 que nas demais avaliadas, em milho Bt;

d) os milhos Bt menos consumidos pelas lagartas de *P. sequax* são os que expressam as tecnologias MIR162 e Bt11 x MIR162 x GA21;

e) a estrutura de planta (folha nova, folha velha e legumes) que serve de alimento para lagartas em soja MON87701 x MON89788 não influencia na mortalidade de 1º ínstar de *H. armigera*.

f) em lagartas de *H. armigera* de 4º ínstar, a mortalidade é maior em folhas novas. Em legumes, a mortalidade de lagartas neonatas é maior;

g) as lagartas neonatas de *H. armigera* alimentadas com soja MON87701 x MON89788 morrem mais rapidamente que as lagartas de 4º ínstar.

REFERÊNCIAS

AFONSO, A. P. S.; WREGGE, M.; MARTINS, J. F. da S.; NAVA, D. E. Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 76, p. 607-612, 2009.

AGUIAR, R. W. S. *Estudo da toxicidade de proteínas (Cry) recombinantes de Bacillus thuringiensis, utilizando o sistema de expressão baseado em baculovírus e células de inseto*. 2007. 122 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular), Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

ALBERNAZ, K. C. *Suscetibilidade à proteína Cry1Ac e estrutura genética em populações de Heliothis virescens (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil*. 2011. 83 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

ALMEIDA, A. A.; LIMA, E. R.; REIS Jr., R. Pupal period affects calling behavior of the wheat moth, *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ethology*, v. 114, p. 499–503, 2008.

ARONSON, A. I.; BECKMAN, W.; DUNN, P. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological reviews*, v. 50, p. 1, 1986.

ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. *Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. (Circular Técnica, 23).

BABU, B.; UDAYASURIYAN, V.; MARIAM, M.; SIVAKUMAR, N.; BHARATHI, M.; BALASUBRAMANIAN, G. Comparative toxicity of Cry1Ac e Cry2Aa delta endotoxins of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (H.). *Crop Protection*, v. 21, p. 817-822, 2002.

BARBOSA, T. A.; SANTOS, C. A.; MENDES, S. M.; ARAÚJO, O. G.; HEBACH, F. C.; DIAS, A. S.; RIBEIRO, E. R.; VIANA, P. A. Efeito de diferentes proteínas bt expressas em milho geneticamente modificado na sobrevivência e biomassa de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850). In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, *Anais..* Águas de Lindóia, 2012.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, Desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. *Neotropical Entomology*, v. 39, p. 996-1001, 2010.

BAUCE, É.; BIDON, Y.; BERTHIAUME, R. Effects of food nutritive quality and *Bacillus thuringiensis* on feeding behaviour, food utilization and larval growth of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) when exposed as fourth- and sixth-instar larvae. *Agricultural and Forest Entomology*, v. 4, p. 57-70, 2002.

BERNARDI, O., AMADO, D., SOUSA, R. S., SEGATTI, F., FATORETTO, J., BURD, A. D.; OMOTO, C. Baseline susceptibility and monitoring of Brazilian populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) to Vip3Aa20 insecticidal protein. *Journal of Economic Entomology*, v. 107, p. 781-790, 2014.

BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. D. de. (Org.). *Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011, v. 1, p. 181-207.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; RIBEIRO, R. S.; OKUMA, D. M.; SALMERON, E.; FATORETTO, J.; MEDEIROS, F. C. L.; BURD, T.; OMOTO, C. Frequency of resistance to Vip3Aa20 toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. *Crop Protection*, v. 76, p. 7-14, 2015.

BERNARDI, O.; MALVESTITI, G. S.; DOURADO, P. M.; OLIVEIRA, W. S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U.; OMOTO, C.

Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701× MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest management science*, v. 68, p. 1083-1091, 2012.

BERTELS, A. Pragas do trigo no campo e seu combate. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 5, p. 81-89, 1970.

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

BIANCO, R. Manejo de pragas do milho em plantio direto. In: INSTITUTO BIOLÓGICO DE SÃO PAULO (Org.). *Encontro de fitossanidade de grãos*. Campinas: Emopi Editora e Gráfica, 2005. p. 8-17.

BIRD, L. J.; AKHURST, R. J. Variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren)(Lepidoptera: Noctuidae) in Australia to two *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of invertebrate Pathology*, v. 94, p. 84-94, 2007.

BOBROWSKI, V. L.; FIÚZA, L. M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Revista Ciência Rural*, v. 34, p. 843-850, 2003.

BOGACHEV, A. V. Corn earworm and methods of its control [in Russian], 1954.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. D. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 11-28.

BORTOLOTTO, O. C.; BUENO, A. F.; BRAGA, K.; BARBOSA, G. C.; SANZOVO, A. Biological characteristics of *Heliothis virescens* fed with Bt-soybean MON 87701 × MON 89788 and its conventional

isoline. *Anais da Acadêmica Brasileira de Letras*, v. 86, p. 973-980, 2014.

BOTTON, M.; CARBONARI, J. J.; GARCIA, M. S.; MARTINS, J. F. S. Preferência alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz e capim-arroz. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 27, p. 207-212, 1998.

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

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use. In: GILBERT L.I.; IATROU K.; GILL, S.S. (Ed.). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Amsterdam: Elsevier BV, 2005. p. 175-206.

BUENO, A. F.; POMARI, A. F.; BORTOLOTTI, O. C.; BUENO, R. C. O. F. Utilização e preservação de parasitoides de ovos no manejo de lepidópteros-pragas da cultura da soja. In: SINCOBIOL, 13, 2013, Bonito, *Anais.. Mato Grosso do Sul: SEB*, 2013.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; DI OLIVEIRA, J.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; LOECK, A. E.; ZART, M.; NUNES, A. M.; BERNARDI, O.; ANDERSSON, F. S. Adequação de uma dieta artificial para os biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bragantia*, v. 65, p.317-323, 2006.

BURKNESS, E. C.; DIVELY, G.; PATTON, T.; MOREY, A. C.; HUTCHISON, W. D. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions: Implications for resistance management. *GM Crops*, v. 1, p. 337-343, 2010.

CAIXETA, C. F. *Seleção de estirpes de Bacillus thuringiensis tóxicas à Helicoverpa armigera e promotoras de crescimento vegetal*. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2015. 82f.

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

CASTRO, A. P. *Perspectivas da utilização do gene bt para o controle de insetos-praga do arroz no Brasil*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. (Documentos, 232).

CASTRO, B. A.; LEONARD, B. R.; RILEY, T. J. Management of feeding damage and survival of southwestern corn borer and sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with *Bacillus thuringiensis* transgenic field corn. *Journal of Economic Entomology*, v. 97, p. 2106-2116, 2004.

CÉLERES. *1º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2015/16*. Disponível em: <<http://www.celeres.com.br/1o-levantamento-de-adocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra-201516/>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

CHEN, Z. Y.; JIE, X. W.; SONG, F. P.; DA, G. Y., HUANG, F. Cloning of Bt cry Genes by rapid screening of DNA libraries with PCR-RFLP. *Agricultural Sciences in China*, v. 2, p. 132-136, 2003.

CHO, S.; MITCHELL, A.; MITTER, C.; REGIER, J.; MATTHEWS, M.; ROBERTSON, R. O. N. Molecular phylogenetics of heliothine moths (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae), with comments on the evolution of host range and pest status. *Systematic Entomology*, v. 33, p. 581-594, 2008.

CLARK, J. M. *Molecular action of insecticides on ion channels*. American Chemical Society, 1995. p. 256-360.

COELHO, M. *Resistência de soja Bt e pela aplicação de silício em soja convencional a *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae)*. 2015. 46 f. Dissertação (Mestrado acadêmico), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

CORTEZ, H.; TRUJILLO A, J. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maíz. *Turrialba*, v. 44, p. 1-9, 1994.

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

CRUZ, I.; BIANCO, R. Manejo de Pragas na Cultura do Milho Safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA. *Anais...* Londrina: IAPAR, 2001. p.79-112.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; MATOSO, M. J. *Controle biológico de Spodoptera frugiperda utilizando o parasitóide de ovos Trichogramma*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1999. 40 p.

CTNBIO, Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. *Resumo Geral de Plantas Geneticamente modificadas aprovadas para Comercialização*. Disponível em: <http://ctnbio.mcti.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display/SqhWdohU4BvU/view/1684467#/liberacao-comercial/consultar-processo>. Acesso em: 15 abr. 2016.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 43, p. 110-113, 2013.

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

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *TRENDS in Genetics*, v. 17, p. 193-199, 2001.

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*, v. 37, p. 409-433, 2003.

DIAS, B. F.; GRAÇA, J. P.; GHIZONI, P. A.; UEDA, T. E.; SALVADOR, M. C.; ABELHA, A. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; NUNES, E. O. HOFFMANN-CAMPO, C. B. Desempenho de *Helicoverpa armigera* em genótipos de soja com diferentes perfis de metabólitos secundários. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 17, *Anais.. Mercosoja*, 2015.

DIEZ-RODRIGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. *Neotropical Entomology*, v. 30, p. 311-316, 2001.

DRAKE, V. A. Methods for studying adult movement in *Heliothis*. In.: ZALUCKI, M. P. (Ed.). *Heliothis: research methods and prospects*. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 109–121.

DU, C.; NICKERSON, K. W. The *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxin binds biotin containing proteins. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, p. 2932-2939, 1996.

DUFFIELD, S. J.; CHAPPLE, D. G. Within plant distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs on irrigated soybean. *Australian Journal of Entomology*, v. 40, p. 151–157, 2001.

DUMAS, V. F. *Clonagem e avaliação da toxicidade de proteínas inseticidas de Bacillus thuringiensis para populações de Anticarsia gemmatilis (Lepidoptera: Noctuidae) e Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)*. 2009. 140 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular), Universidade de Brasília, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Brasília, 2009.

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

EIZAGUIRRE, M.; MADEIRA, F.; LÓPEZ, C. Effects of Bt maize on non-target lepidopteran pests. *IOBC-WPRS Bulletin*, v. 52, p. 49-55, 2010.

EMBRAPA. *Ações emergenciais propostas pela Embrapa para o manejo integrado de Helicoverpa spp. em áreas agrícolas*. Brasília: Embrapa, 2013. 19 p.

ESTRUCH, J. J., WARREN, G., MULLINS, M., NYE, G., CRAIG, J., KOZIEL, M. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 93, p. 5389–5394, 1996.

ETGES, H. *Pioneer responde: milho Bt; Híbridos Pioneer® com o gene YieldGard®*. 2008. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/ProdutosBiotecnologiaMilhoBT>. Acesso em: 8 maio 2015.

FANG, J.; XU, X.; WANG, P.; ZHAO, J. Z.; SHELTON, A. M.; CHENG, J.; SHEN, Z. Characterization of chimeric *Bacillus thuringiensis* Vip3 toxins. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, p. 956-961, 2007.

FARIAS, J. R. *Milho Bt e inseticidas no manejo de lepidópteros-praga*. 2010. 116 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Santa Maria, 2010.

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*, v. 64, p. 150-158, 2014.

FARRAR, R. R.; BRADLEY, J. R. Within-plant distribution of *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and larvae on cotton in North Carolina. *Environmental Entomology*, v. 14, p. 205-209, 1985.

FEARING, P. L.; BROWN, D.; VLACHOS, D.; MEGHJI, M.; PRIVALLE, L. Quantitative analysis of CryIA (b) expression in Bt maize plants, tissues, and silage and stability of expression over successive generations. *Molecular Breeding*, v. 3, p. 169-176, 1997.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. *Stages os soybean development*. Ames: Iowa State University, 1977. 12 p.

FEITELSON, J. S.; PAYNE, J.; KIM, L. *Bacillus thuringiensis: insects and beyond*. *Nature Biotechnology*, v. 10, p. 271-275, 1992.

FERNANDES, O. D. Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. 2003. 164 f. Tese (Doutorado em Entomologia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; F. NETO, A.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B. Efeito do milho geneticamente modificado MON 810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 2, p. 25-35, 2003.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*, v. 47, p. 501-543, 2002.

FIGUEIREDO, M. de L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. *Exasticolus fuscicornis* em lagartas de *Spodoptera frugiperda*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 41, p. 1321-1323, 2006.

FITT, G. P.; WILSON, L. J. Genetic engineering in IPM: Bt cotton. In: KENNEDY, G. G.; SUTTON, T. B. *Emerging Technologies in Integrated Pest Management: Concepts, Research and Implementation*. *American Phytopathological Society*, p. 108-125, 2000.

FIUZA, L. M.; Mecanismo de ação de *Baccillus thuringiensis*. *Biotechnologia Ciência e Desenvolvimento*, v. 38, p. 32-35, 2010.

FOERSTER, L. A.; AVANCI, M. R. F.; DOETZER, A. K. Effect of temperature on the development and progeny production of *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) (Hymenoptera: Braconidae) parasitizing larvae of *Pseudaletia sequax* Franclemont (Lepidoptera:

Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 28, p. 485-490, 1999.

FRANCLEMONT, J. G. The species of the *Leucania unipuncta* group, with a discussion of the generic names for the various segregates of *Leucania* in North America. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, v. 53, p. 57-85, 1951.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, L. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMINI, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. *Entomologia Agrícola*. 10. ed. São Paulo: FEALQ, 2002. 920 p.

GARCÍA, M.; ORTEGO, F.; HERNÁNDEZ-CRESPO, P.; FARINÓS, G. P.; CASTAÑERA, P. Inheritance, fitness costs, incomplete resistance and feeding preferences in a laboratory-selected MON810-resistant strain of the true armyworm *Mythimna unipuncta*. *Pest Management Science*, v. 71, p. 1631-1639, 2015.

GASSEN, D. N. *Pragas associadas à cultura do milho*. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1994. 92 p.

GASSEN, D. N. *Manejo de pragas associadas à cultura milho*. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. p. 85-104.

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

GONZÁLEZ-CABRERA, J.; GARCÍA, M.; HERNÁNDEZ-CRESPO, P.; FARINÓS, G. P.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P. Resistance to Bt maize in *Mythimna unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) is mediated by alteration in Cry1Ab protein activation. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v. 43, p. 635-643, 2013.

GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. S.; CUNHA, U. S. da. Insetos-pragas das culturas do milho e sorgo no agroecossistema de várzea. In: PARFITT, J. M. B. *Produção de milho e sorgo em várzea*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. p. 87-102.

GUEDES, J. V. C.; ARNEMANN, J. A.; PIRINI, C. R.; MELLO, A. A.; ROHRIG, A.; STACKE, R. F.; MACHADO, M. R. R. *Helicoverpa armigera*: da invasão ao manejo da soja. *Revista Plantio Direto*, v. 137/138, p. 24- 35, 2013.

GUJAR, G. T.; KALIA, V.; KUMARI, A.; SINGH, B. P.; MITTAL, A.; NAIR, R.; MOHAN, M. *Helicoverpa armigera* baseline susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins and resistance management for Bt cotton in India. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 95, p. 214–219, 2007.

GUO, Y. Y. Progress in the research on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. *Acta Entomologia Sinica*, v. 40, p. 1-6, 1997.

HARDKE, J. T.; LEONARD, B. R.; HUANG, F.; JACKSON, R. E. Damage and survivorship of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic field expressing *Bacillus thuringiensis* Cry proteins. *Crop Protection*, v. 30, p. 168-172, 2010.

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

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, E. D. *Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado*. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 70 p.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCRADI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GÓMEZ, D.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. *Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado*. Londrina: Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Soja, 2000. (Circular Técnica, 30).

HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological reviews*, v. 53, p. 242-255, 1989.

HUANG, F.; GHIMIRE, M. N.; LEONARD, B. R.; ZHU, Y.; HEAD, G. P. Susceptibility of field populations of sugarcane borer from non-Bt and Bt maize plants to five individual Cry toxins. *Insect Science*, v. 19, p. 570–578, 2012.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER JR, R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; YANG, F. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided Bt maize. *PLoS One*, v. 9, p. e112958, 2014.

IHARA, H.; KURODA, E.; WADANO, A.; HIMENO, M. Specific toxicity of dendotoxins from *Bacillus thuringiensis* to *Bombyx mori*. *Biochemic Biotechnology Biochemic*, v. 57, p. 200–204, 1993.

ISIDRO, R.; DE ALMEIRA, R.P.; PEREIRA, J.O.V. Consumo foliar de *Spodoptera frugiperda* em amendoim cultivares Tatu e CNPA BR-1. *Revista de Oleaginosas e Fibrosas*, v. 1, p. 37-42, 1997.

JACKSON, R. E.; MARCUS, M. A.; GOULD, F.; BRADLEY, J. R.; VAN DUYN, J. W. Cross-resistance responses of Cry1Ac-selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to the *Bacillus thuringiensis* protein Vip3A. *Journal of Economic Entomology*, v. 100, p. 180-186, 2007.

JAEGER, R. J.; LAMSHÖFT, M.; GOTTFRIED, S.; SPITELLER, M.; SPITELLER, P. HR-MALDI-MS imaging assisted screening of β -carboline alkaloids discovered from *Mycena metata*. *Journal of natural products*, v. 76, p. 127-134, 2013.

JAMES, C. *Global status of commercialized biotech/GM Crops, 2012*. Ithaca New York: ISAAA, 2012.

JANMAAT, A. F.; BERGMANN, L.; ERICSSON, J. Effect of low levels of *Bacillus thuringiensis* exposure on the growth, food consumption and digestion efficiencies of *Trichoplusia ni* resistant and susceptible to Bt. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 119, p. 32–39, 2014.

JANMAAT, A.F.; MYERS, J. Rapid evolution and the cost of resistance to *Bacillus thuringiensis* in greenhouse populations of

cabbage loopers, *Trichoplusia ni*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, v. 270, p. 2263-2270, 2003.

JIANG, J.; ZENG, A.; JI, X.; WAN, N.; CHEN, X. Combined effect of nucleopolyhedrovirus and *Microplitis pallidipes* for the control of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Pest management science*, v. 67, p. 705-713, 2011.

KIDO, E. A.; JARAMILLO, E. H.; ZELASCHI, F. C.; ARAGÃO, F. J. L.; SOUSA, G. D.; VILLEGAS, I. S.; REBOLLEDO, J. L. S.; FARIA, J. C.; MELO, M. A.; ROCA, M. M.; BURACHIK, M.; ANDRADE, P. P.; GARCÍA, S. O.; PARROTT, W. *Guia para a Avaliação do Risco Ambiental de Organismos Geneticamente Modificados*. 1. ed. São Paulo: Internacional Life Sciences Institute do Brasil, 2012. 146 p.

KNOWLES, B. H.; DOW, J. A. T. The crystal δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis*: Models for their mechanism of action on the insect gut. *BioEssays*, v. 15, p. 469-476, 1993.

KNOWLES, B.H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ endotoxins. *Advances in insect Physiology*, v. 24, p. 275-308, 1994.

KOGAN, M. Integrated pest management: Historical perspective and contemporary developments. *Annual Review of Entomology*, v. 43, p. 2043-2070. 1998.

KRANTHI, K.; KRANTHI, S.; WANJARI, R. Baseline toxicity of Cry1A toxins to *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: noctuidae) in India. *International Journal of Pest Management*, v. 47, p. 141-145, 2010.

KRYWUNCZYR, J.; FAST P. G. Sorological relationships of the crystal of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 36, p. 139-140, 1980.

LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. *Report of a pest risk analysis: Helicoverpa armigera (Hübner, 1808)*. UK Department of

Environment, Forestry and Rural Affairs: Plant Protection Service (NL) and Central Science Laboratory (UK), 2007.

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

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

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

LIAO, C.; HECKEL, D. G.; AKHURSTA, R. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins for *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae), major pests of cotton. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 80, p. 55-63, 2002.

LIMA, G. M. S. Proteínas bioinseticidas produzidas por *Bacillus thuringiensis*. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, v.7, p.119-137, 2010.

LIMA, L. G.; ASSMANN, J. E. Desfolha causada pela *Spodoptera frugiperda* em milho com diferentes biotecnologias. *Revista cultivando o saber*, Edição Especial, p. 56 – 66, 2015.

LINK, D. Avaliação do controle da lagarta, *Pseudaletia sequax*, na dessecação da aveia, sobre a cultura do milho, semeada diretamente sobre a palha. In: REUNIAO TECNICA ANUAL DO MILHO, 46, e REUNIAO TECNICA ANUAL DO SORGO, 29, Porto Alegre: FEPAGRO/EMATER, 2001. CD-ROM.

LIU, N. Y.; XU, W.; PAPANICOLAOU, A.; DONG, S. L.; & ANDERSON, A. Identification and characterization of three

chemosensory receptor families in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *BMC genomics*, v. 15, 2014.

LUGINBILL, P. *The fall armyworm*. United States Department of Agriculture Technical Bulletin, Washington, v. 34, 1928. p. 1-91.

MALLET, J.; KORMAN, A.; HECKEL, D. G.; KING, P. Biochemical genetics of *Heliothis* and *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) and evidence for a founder event in *Helicoverpa zea*. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 86, p. 189-197, 1993.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Listagem de OGM autorizados no Brasil*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 9 ago. 2014.

MARCHIORO, L. A.; FOERSTER, L. A. Performance of the wheat armyworm, *Pseudaletia sequax* Franclemont, on natural and artificial diets. *Neotropical Entomology*, v. 41, p. 288–295, 2012.

MARTIN, T.; OCHOU, O. G.; DJIHINTO, A.; TRAORE, D.; TOGOLA, M. Controlling an insecticide-resistant bollworm in West *Agriculture Ecosystems & Environment*, v. 107, p. 409–411, 2005.

MARTINELLI, S.; OMOTO, C. Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, p. 67-77, 2005.

MARTINS, E. S. *Estudo da atividade de proteínas Cry, derivadas de Bacillus thuringiensis ativas para insetos-praga do algodoeiro*. 2009. 158 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

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

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. (Boletim técnico, 157).

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. (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*, v. 10, 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*, v. 78, p. 71-79, 2011.

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

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis* modo de ação e resistência. In: MELO, I. S. AZEVEDO, J. L. (Eds.). *Controle Biológico*, v. 3, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. p.163-200.

MORAES, A. R. A. D.; LOURENÇÃO, A. L.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Resistance of conventional and isogenic transgenic maize hybrids to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bragantia*, v. 74, p. 50-57, 2015.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja/ PR. In: *Resultados da pesquisa de soja 1984/85*. Embrapa, Londrina, 1985. (Documento, 15).

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. Baculovírus para o controle de pragas: panacéia ou realidade. *Biotecnologia Ciência Desenvolvimento*, v. 24, p. 22-29, 2002.

MURÚA, M. G.; SCALORA, F. S.; NAVARRO, F. R.; CAZADO, L. E.; CASMUZ, A.; VILLAGRÁN, M. E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. *Florida Entomologist Society*, v. 97, p. 854- 856, 2014.

NETO, G. B.; CIVIDANES, T. M. S.; BRANCO, R. B.; FELIX, M. R. F.; REI, F. M. C. T.; NOGUEIRA, J. R. Quantificação da proteína Cry1Ab em folhas, caules e grãos de dois híbridos de milho Bt e controle das pragas *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera*. *Boletim de Indústria Animal*, v.70, p. 59-66, 2013.

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*, v. 59, p. 22-28, 2014.

OMOTO, C.; BERNARDI, O. Estratégias de manejo podem prolongar vida útil das tecnologias de milho Bt. *Visão agrícola*, p. 107-109, 2015.

PARAMASIVA, I. Diversity in gut microflora of *Helicoverpa armigera* populations from different regions in relation to biological activity of *Bacillus thuringiensis* alfa-endotoxin Cry1Ac. *Archives Of Insect Biochemistry And Physiology*, v. 87, p. 201–213, 2014.

PEDERSEN, A.; DEDES, J.; GAUTHIER, D.; FRANKENHUYZEN, K. Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Entomologia experimentalis et applicata*, v. 83, p. 253-262, 1997.

PEDGLEY, D. E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. *Entomologist's Gazette*, v. 36, p. 15-20, 1985.

PEDIGO, L. M. P. *Entomology and pest management*. New York: MacMillan, 1989. 691 p.

PÉREZ-HEDO, M.; LÓPEZ, C.; ALBAJES, R.; EIZAGUIRRE, M. Low susceptibility of non-target Lepidopteran maize pests to the Bt protein Cry1Ab. *Bulletin of Entomological Research*, v. 102, p. 737-743, 2012.

PERKINS, L. E.; CRIBB, B. W.; HANAN, J.; ZALUCKI, M. P. The role of two plant-derived volatiles in the foraging movement of 1st instar *Helicoverpa armigera* (Hübner): time to stop and smell the flowers. *Arthropod-Plant Interactions*, v. 3, p. 173-179, 2009.

PETERLINI, E.; OLIVEIRA, N. C.; AZEVEDO, A. P. Desenvolvimento da lagarta-do-cartucho em híbridos de milho com diferentes tecnologias Bt. *Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, v. 9, p. 58-65, 2014.

PIGOTT, C. R.; ELLAR, D. J. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 71, p. 255-281, 2007.

PILCHER, C. D.; RICE, M. E.; OBRYCKI, J.; LEWIS, L. C. Field and laboratory evaluations of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn on secondary lepidopteran pests (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 90, p. 669-678, 1997.

PINHEIRO, D. H. *Interação de proteínas CryIA com as vesículas da borda escovada da membrana apical (BBMV's) do intestino médio de Spodoptera frugiperda e Diatraea saccharalis e avaliação do tempo de cultivo sobre a produção de β -exotoxina em isolados de Bacillus thuringiensis*. 2013. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

PINÓIA, S. S. F. *Eficácia de Bacillus thuringiensis (Berliner) e spinosade no combate a Helicoverpa armigera (Hbn) (Lepidoptera: Noctuidae) em tomateiro*. 2012. 89 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronômica), Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

PINTO, L. M. N.; FIUZA, L. M. Genes cry de *Bacillus thuringiensis* aplicados na engenharia genética de plantas, conferindo resistência a

insetos-praga. *Neotropical Biology and Conservation*, v. 3, p. 159-168, 2008.

PRÜTZ, G.; DETTNER, K. Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 111, p. 179–187, 2004.

RAZMJOU, J.; NASERI, B.; HEMATI, S. A. Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Journal Pest Science*, v. 87, p. 29–37, 2014.

REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in Western Tanganyika. I. Biology with special reference to the pupal stage. II. Ecology and natural and chemical control. *Bulletin of Entomological Research*, v. 56, p. 117-125, 1965.

RITCHIE, W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Special Report No. 48. In: HERMAN, J.C. (Ed.), *How a Corn Plant Develops*. Ames: Iowa State University, 1997.

ROGERS, D.; BRIER, H. D.; Pest-damage relationships for *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on vegetative soybean. *Crop Protection*, v. 29, p. 39–46, 2010.

RUTHES, E. *Controle das lagartas Spodoptera frugiperda e Pseudaletia sequax em milho pela associação de híbridos Bt, intervalo de dessecação e inseticidas*. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

SALVADORI, J. R.; PARRA, J. R. P. Efeito da temperatura na biologia e exigências térmicas de *Pseudaletia sequax* (Lep.: Noctuidae), em dieta artificial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 25, p. 1693-1700, 1990a.

_____. Desempenho de *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas natural e artificiais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 25, p. 1679-1686, 1990b.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. da S.; SPECHT, A. *Helicoverpa armigera* no Sul. *Cultivar Grandes Culturas*, v. 176, p. 22-23, 2013.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. da; SPECHT, A. Registro da ocorrência de *Helicoverpa armigera* no Rio Grande do Sul, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 25, 2014, Goiânia. *Anais eletrônicos...* Goiânia: Embrapa, 2014.

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

SANTOS, F. A. *Milho Bt e silício na resistência a Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae)*. 2011. 39 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SCHAAFSMA, A. W.; HOLMES, M. L.; WHISTLECRAFT, J.; DUDLEY, S. A. Effectiveness of three Bt corn events against feeding damage by the true armyworm (*Pseudaletia unipuncta* Haworth). *Canadian Journal of Plant Science*, v. 87, p. 599-603, 2007.

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

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

SENAVE *en alerta tras ingreso de peligrosa plaga agrícola*. Asunción/Paraguay: ABC Color, 2013. Disponível em: <<http://www.abc.com.py/edicion-impres/a/economia/senave-en-alerta-tras-ingresso-de-peligrosa-plaga-agricola-629240.html>>. Acesso em: 05 em dezembro de 2015.

SHI, Y.; XU, W.; YUAN, M.; TANG, M.; CHEN, J.; PANG, Y. Expression of vip1/vip2 genes in *Escherichia coli* and *Bacillus thuringiensis* and the analysis of their signal peptides. *Journal of Applied Microbiology*, v. 97, p. 757-765, 2004.

SIEGEL, J. P. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *Journal of invertebrate pathology*, v. 77, p. 13-21, 2001.

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

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*, v. 66, p. 1337-1349, 2009.

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

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

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; DE PAULA-MORAES, S. V.; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, p. 689-692, 2013.

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

TAKAHASHI, M. K.; NAKANO, O.; OSI, J. R. Avaliação de danos causados por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de trigo. *Solo*, v. 72, p. 43-44, 1980.

TANAKA, S.; YOSHIZAWA, Y.; SATO, R. Response of midgut epithelial cells to Cry1Aa is toxin-dependent and depends on the interplay between toxic action and the host apoptotic response. *FEBS Journal*, v. 279, p. 1071-1079, 2012.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Plos One*, v. 8, p. e80134, 2013.

THOMAZONI, D.; SORIA, M. F.; PEREIRA, E. J. G.; DEGRANDE, P. E. *Helicoverpa armigera*: perigo iminente aos cultivos de algodão, soja e milho do estado do Mato Grosso. Cuiabá: Instituto Mato-Grossense do Algodão, n.5, 2013. (Circular Técnica).

VALADEZ-LIRA, J. A.; ALCOCER-GONZALEZ, J. M.; DAMAS, G.; NUÑEZ-MEJÍA, G.; OPPERT, B.; RODRIGUEZ-PADILLA, C.; TAMEZ-GUERRA, P. Comparative evaluation of phenoloxidase activity in different larval stages of four lepidopteran pests after exposure to *thuringiensis* *Bacillus*. *Journal of Insect Science*, v. 12, p. 1-11, 2012.

VALAITIS, A. Localization of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxin-binding molecules in gypsy moth larval gut sections using fluorescence microscopy. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 108, p. 69-75, 2011.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 101, p. 1-16, 2009.

VAN FRANKENHUYZEN, K.; GRINGORTEN, L.; DEDES, J.; GAUTHIER, D. Susceptibility of different instars of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* estimated with a droplet-feeding method. *Journal of economic entomology*, v. 90, p. 560-565, 1997.

VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; HOFTE, H.; DEGHEELE, D.; VAN MELLAERT, H. Specificity of *Bacillus thuringiensis* alfa-endotoxin: importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insects. *European Journal of Biochemistry*, v. 186, p. 239-247, 1989.

VIANA, D. D. L. *Efeitos de cultivares de algodoeiro que expressam as proteínas CryIAc e CryIF nos parâmetros biológicos de Chrysodeixis includens (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae)*, 2014. 42 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014.

VILELA, M.; MENDES, S. M.; VALICENTE, F. H.; CARVALHO, S. S. S.; SANTOS, A. E.; SANTOS, C. A.; BARBOSA, T. N.; CARVALHO, E. A. R.; COSTA, V. H. D. *Metodologia para Criação e Manutenção de Helicoverpa armigera em Laboratório*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2014. (Circular Técnica, 203).

VOLNEY, W. J. A.; CERZKE, H. F. The phenology of white spruce and the spruce budworm in northern Alberta. *Canadian Journal of Forest Research*, v. 22, p. 198-205, 1992.

WALTON, W. R. *The true armyworm and its control*. Washington: U. S. Department of Agriculture, 1916. 12 p.

WANG, L.; JIANG, X.; LUO, L.; STANLEY, D.; SAPPINGTON, T. W. A cadherin-like protein influences *Bacillus thuringiensis* CryIAb toxicity in the oriental armyworm, *Mythimna separata*. *Environmental Microbiology Reports*, v. 5, p. 438-443, 2013.

WANG, N. C.; LI, Z. H. Studies on the biology of cotton bollworm (*Heliothis armigera* Hübner) and tobacco budworm (*Heliothis assulta*

Quenee). *Journal of the Shandong Agricultural University*, v. 1-2, p. 13-25, 1984.

WANG, Z. Y.; WANG, D. Y.; HE, K. L.; BAI, S. X.; CONG, B. Evaluation the control effects of the transgenic *Bacillus thuringiensis* corn expressing Cry1Ab protein on the larvae of *Mythimna separate* (Walker) in laboratory. *Acta Phytophylacica Sinica*, v. 32, p. 153-157, 2005.

WANG, Z.; LIN, H.; HUANG, J.; HU, R.; ROZELLE, S.; PRAY, C. Bt cotton in China: are secondary insect infestations offsetting the benefits in farmer fields? *Agricultural Sciences in China*, v. 8, p. 83-90, 2009.

WAQUIL, J. M.; BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M. *Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho, Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) no cultivo do milho-Bt*. Sete Lagoas: EMBRAPA CNPMS, 2008. (Circular Técnica, 160).

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

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

WESELOH, R. M.; ANDREADIS, T. G. Possible mechanism for synergism between *Bacillus thuringiensis* and the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) parasitoid, *Apanteles melanoscelus* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 75, p. 435-438, 1982.

WHEELER, G. S.; HALPERN, M. D. Compensatory responses of *Samea multiplicalis* larvae when fed leaves of different fertilization

levels of the aquatic weed *Pistia stratiotes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 92, p. 205-216, 1999.

WILLSON, H. R.; STINNER, B. R. Recovery of field corn following insecticide treatment to arrest defoliation by *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Agriculture Entomology*, v. 11, 1994.

WOLFERSBERG, M. G. *Permeability of Bacillus thuringiensis CryI toxin channels*. Philadelphia: Temple University, 1995.

WU, K. Monitoring and management strategy for *Helicoverpa armigera* resistance to Bt cotton in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 95, p. 220–223, 2007.

YANG, F.; HUANG, F.; OURESHI, J. A.; LEONARD, B. R.; NIU, Y.; ZHANG, L.; WANGILA, D. S. Susceptibility of Louisiana and Florida populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to transgenic Agrisure_Viptera 3111 corn. *Crop Protection*, v. 50, p. 37-39, 2013b.

YANG, J.; LI, W.; CHAI, X.; YUAN, G.; FU, G.; WANG, Y.; GUO, X.; LUO, M. Antifeedant activity of numb and salty taste compounds against the larvae of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Ecologica Sinica*, v. 33, p. 7–11, 2013a.

YEOH, A. J.; DAVIS, K.; VELA-MENDOZA, A. V.; HARTLAUB, B. A.; GILLEN, C. M. Effect of body size on expression of *Manduca sexta* midgut genes. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, v. 317, p. 141-151, 2012.

ZALUCKI, M. P.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P. H. The biology and ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? *Australian Journal of Zoology*, v. 34, p. 779-814, 1986.

ZHAO, J. H.; HO, P.; AZADI, H. Benefits of Bt cotton counterbalanced by secondary pests? Perceptions of ecological change in China. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 173, p. 985–994, 2011.

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