

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Entomologia



Dissertação

**Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação e
avaliação do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas**

Leticia Hellwig

Pelotas, 2015

Leticia Hellwig

**Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação e
avaliação do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Entomologia.

Orientadora: Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa (Embrapa Clima Temperado)
Coorientador: Prof. Dr. Anderson Dionei Grützmacher (UFPel)

Pelotas, 2015

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

H476r Hellwig, Leticia

Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação e avaliação do refúgio no saco para milho transgênico / Leticia Hellwig; Ana Paula Schneid Afonso da Rosa, orientadora; Anderson Dionei Grützmacher, coorientador. — Pelotas, 2015.
83 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2015.

1. Nível de controle. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. *Zea mays*. 4. Manejo de resistência. I. Afonso-Rosa, Ana Paula Schneid, orient. II. Grützmacher, Anderson Dionei, coorient. III. Título.

CD: 633.15

Leticia Hellwig

Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação e avaliação
do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em
Entomologia, Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia,
Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 20/02/2015

Banca examinadora:

Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa (Orientadora)
Doutora em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr. Mauro Silveira Garcia
Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo.

Dra. Adrise Medeiros Nunes
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas.

Dra. Gabriela Inés Diez Rodríguez
Doutora em Entomologia pela Universidade de São Paulo.

Aos meus pais, Nilvo e Rosane, e ao meu irmão
Leonardo, por todo apoio durante essa jornada.

Dedico

Agradecimentos

À Deus por me orientar e me dar forças para seguir em frente ultrapassando inúmeros obstáculos.

À minha família que esteve ao meu lado, participando, incentivando, e acreditando no meu sucesso.

Ao meu namorado Gladistone Hartwig pelo imenso amor, carinho e incentivo em todos os momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de realização do curso.

Ao convênio Embrapa/Monsanto pelo apoio financeiro.

À orientadora Dr. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa da Embrapa Clima Temperado pela orientação e apoio para a realização do trabalho.

Ao Professor Dr. Anderson Dionei Grützmacher do Departamento de Fitossanidade da FAEM/UFPel pela colaboração prestada.

À Dr. Roberta Manica-Berto pela imensa dedicação na elaboração deste trabalho.

Aos colegas e amigos do curso de Pós-Graduação em Entomologia pelo companheirismo e colaboração prestados.

Aos amigos do Núcleo de Manejo Integrado de Pragas – NUMIP, da Embrapa/ETB Lauren Medina, Patrícia Marques, Emanoela Londero, Calisc Trecha, Marcus Fipke, Caroline Nemitz, Jefferson Theodoro, Higor Barcelos, Luiza Arrieira e Carolini Lima pela imensa colaboração, incentivo, ensinamentos profissionais e pessoais, pelas palavras nas horas difíceis, todos foram muito importantes nessa etapa.

Resumo

Hellwig, Leticia. **Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação e avaliação do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas.** 2015. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O milho é um dos mais importantes e tradicionais cereais do mundo. O Brasil ocupa a 3ª posição na produção mundial, cultivando mais de 15 milhões de hectares e produzindo aproximadamente 80 milhões de toneladas por ano. No estado do Rio Grande do Sul, apresenta importância sócio-econômica, em termos de renda e emprego e é responsável por 6,6% dessa produção. Nos últimos anos a produção de milho tem sofrido grandes avanços, consequência das novas tecnologias disponíveis para os agricultores, propiciando aumento de produtividade, no entanto, os problemas fitossanitários têm se agravado a cada safra. Neste contexto, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a principal praga nas condições brasileiras, podendo causar perdas de até 100% da produção. Nesse sentido, os objetivos do estudo foram: a) reavaliar o nível de dano de *S. frugiperda* em milho convencional, BG7060, através de infestação artificial com diferentes densidades populacionais de lagartas (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹) em diferentes estádios fenológicos da planta (V0-V12; V2-V4; V4-V8 e V8-V12 folhas completamente expandidas) em casa de vegetação; e b) avaliação de tecnologias de refúgio com diferentes proporções de misturas de sementes de milho *Bt* e não-*Bt* (BG7060: 100% transgênica, 100% convencional e 90% transgênica + 10% convencional; AG9045: 100% transgênica, 100% convencional e 95% transgênica + 5% convencional) em condições de campo. Os resultados obtidos evidenciaram que o aumento do número de lagartas de *S. frugiperda* por planta para o milho BG7060 afeta todas as variáveis relacionadas à produtividade, exceto a altura de planta e comprimento da espiga, propiciando uma menor produtividade conforme ocorre aumento no número de lagartas planta⁻¹ e que o nível de controle de *S. frugiperda* para o milho BG7060 para o estádio V4-V8 é 29% de plantas atacadas em uma amostragem de 100 plantas, quando ocorre uma lagarta planta⁻¹. Também constatou-se que os híbridos influenciam na eficácia da tecnologia “Refuge in the Bag – RIB”, concluindo que ambas as misturas testadas, BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) e AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%), podem ser utilizadas na substituição do refúgio estruturado, apesar de que o híbrido AG9045 sempre apresentou o menor número médio de lagartas e a menor porcentagem de plantas atacadas quando comparado ao híbrido BG7060. Sendo assim, a intensidade de dano, de maneira geral, diminui com a redução na proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia.

Palavras-Chave: nível de controle, lagarta-do-cartucho, *Zea mays*, manejo da resistência.

Abstract

Hellwig, Leticia. **Re-evaluation of the level of damage of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in conventional maize in greenhouses and evaluation of Refuge in bag for genetically modified maize in low lands.** 2015. 83s. Dissertation (Master's) – Post Graduation Program in Entomology. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Maize is one of the most important and traditional cereals in the world. Brazil ranks the third position in world production, cultivating more than 15 million hectares and producing approximately 80 million tons a year. In the state of Rio Grande do Sul, it has a considerable socio-economic importance, in terms of income and employment and the state is responsible for 6,6% of this production. In the last few years maize production has advanced considerably as a consequence of new technologies available for farmers, providing an increase in productivity. However, sanitation problems have worsened in each harvest. In this context, the armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is considered the main pest in the Brazilian conditions and it may cause losses of up to 100% of the production. In this sense, the purposes of the study were: a) re-evaluate the level of damage of the *S. frugiperda* in conventional maize, BG7060, through artificial infestation with different populational densities (0, 1, 3, 5, 10, 15 and 20 worms plant⁻¹) in different phenological stages of the plant (V0-V12; V2-V4; V4-V8 and V8-V12 fully expanded leaves) in greenhouse; and b) evaluation of refuge technologies with different proportions of maize seed mixtures *Bt* and non-*Bt* (BG7060: 100% genetically modified, 100% conventional and 90% genetically modified + 10% conventional; AG9045: 100% genetically modified, 100% conventional and 95% genetically modified + 5% conventional) in field conditions. The results obtained highlighted that the increase in the number of worms of *S. frugiperda* by plant for the BG7060 maize affects all variables related to productivity, except the plant height and length of the ear, providing a smaller productivity as there is an increase in the number of worms per plant and that the control level of *S. frugiperda* for the BG7060 maize for V4-V8 stage is 29% of attacked plants in a sample of 100 plants, when there is one worm per plant. It has also been noticed that crossbreed influence in the effectiveness of the technology "Refuge in the Bag – RIB", concluding that both tested mixtures, BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) and AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%) can be used in the replacement of structured refuge, despite the fact that the hybrid AG9045 always presented a lower average number of worms and the lowest percentage of attacked plants when compared to the hybrid BG7060. Thus the intensity of damage, in a general way, decreases with the reduction of proportion of non genetically modified seeds used in the technology.

Key words: control level, armyworm, *Zea mays*, resistance management.

Lista de Figuras

Figura 1	Inoculação de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de milho, cultivar BG7060, (A) e baldes protegidos para evitar o escape das lagartas (B). Capão do Leão, RS, 2013/14.....	34
Figura 2	Médias das notas atribuídas em função do dano foliar de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais do inseto-praga (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta ⁻¹) nos estádios fenológicos de V2-V4, V4-V8 e V8-V12. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	37
Figura 3	Notas atribuídas em função do dano foliar de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais do inseto-praga (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta ⁻¹) nos estádios fenológicos V2-V4 (A), V4-V8 (B) e V8-V12 (C). Capão do Leão, RS, 2013/14. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).....	37
Figura 4	Altura da inserção da espiga (cm) (Alt - A) e número de fileira de grãos (Fil - A), número de grãos fileira ⁻¹ (Fil - B) e de grãos espiga ⁻¹ (Esp - B), diâmetro da espiga (cm) (Esp - C) e do sabugo (cm) (Sab - C) e peso grãos planta ⁻¹ (Gra- D) de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais de <i>Spodoptera frugiperda</i> (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta ⁻¹) no estádio fenológico V4-V8. Capão do Leão, RS, 2013/14. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).....	40
Figura 5	Procedimentos para diagnosticar a presença ou ausência das proteínas <i>Cry1F</i> e <i>Cry2A</i> nas folhas de milho das cultivares BG7060 H e AG9045 PRO2, respectivamente. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	53
Figura 6	Número médio de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> (A) e percentual de plantas atacadas (B) em função de diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	56
Figura 7	Produtividade média (kg ha ⁻¹) das cultivares de milho BG7060 H e AG9045 PRO2, nos tratamentos com as porcentagens de mistura de sementes não transgênicas com transgênicas (Mistura de 10% e 5% para BG7060 e AG9045, respectivamente), totalmente transgênico e totalmente convencional em relação aos danos causados por <i>Spodoptera frugiperda</i> . Capão do Leão, RS, 2013/14. ¹ Média de cinco determinações ± desvio padrão. Médias seguidas por mesma letra não diferiram entre si pelo teste de Duncan (p 0,05).....	61

Lista de Tabelas

Tabela 1	Escala para atribuição de notas de danos causados por <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de milho (DAVIS; NG; WILLIAMS, 1992).....	34
Tabela 2	Médias das variáveis relacionadas à produtividade de milho, cultivar BG7060 no estágio fenológico V4-V8, em função dos danos causados por <i>Spodoptera frugiperda</i> . Capão do Leão, RS, 2013/14.....	39
Tabela 3	Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes em função das densidades populacionais de <i>Spodoptera frugiperda</i> (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta ⁻¹) no estágio fenológico V4-V8 da cultivar de milho BG7060. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	42
Tabela 4	Dados estimados da produção de grãos (g planta ⁻¹ e Kg ha ⁻¹) e percentuais de perdas na produção de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais de <i>Spodoptera frugiperda</i> (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta ⁻¹) no estágio fenológico de V4-V8 folhas. Dados estimados pela equação $y = 40,80 - 3,56x + 0,13x^2$. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	45
Tabela 5	Nível de controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> em milho, cultivar BG7060, submetido a infestações artificiais do inseto-praga (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta ⁻¹) no estágio fenológico de V4-V8 folhas. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	47
Tabela 6	Tratamento e respectiva proporção de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho utilizado nos tratamentos, Capão do Leão, RS, 2013/14.....	51
Tabela 7	Data de aplicação, tratamento, grupo químico, ingrediente ativo, formulação comercial, modo de ação e dose dos produtos aplicados para o controle de plantas daninhas e <i>Spodoptera frugiperda</i> durante a condução do experimento de mistura de sementes a campo. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	52
Tabela 8	Coeficientes dos contrastes ortogonais testados para diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045. Capão do Leão, RS, 2013/14.....	55
Tabela 9	Médias das variáveis relacionadas à produtividade, em função de diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045, e significância dos contrastes ortogonais testados em relação aos danos causados por <i>Spodoptera frugiperda</i> . Capão do Leão, RS, 2013/14.....	60

Sumário

1 Introdução.....	12
2 Revisão de literatura.....	14
2.1 Cultura do milho.....	14
2.2 Bioecologia e importância econômica de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho.....	16
2.3 Manejo Integrado de Pragas, Níveis de Dano Econômico (NDE) e Níveis de Controle (NC).....	19
2.4 Milho transgênico (Bt).....	23
2.5 Técnicas para garantir a sustentabilidade da tecnologia Bt.....	25
3 Capítulo I – Reavaliação do nível de dano de Spodoptera frugiperda J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação.....	30
3.1 Introdução.....	30
3.2 Material e métodos.....	32
3.3 Resultados e discussão.....	36
3.3.1 Danos nas folhas.....	36
3.3.2 Avaliações dos parâmetros da produção.....	39
3.3.3 Estudo dos níveis de dano (ND).....	44
3.3.3.1 Determinação da produtividade estimada em função da densidade de lagartas de Spodoptera frugiperda.....	44
3.3.3.2 Determinação dos níveis de dano (ND) e de controle (NC).....	45
3.4 Conclusões.....	47
4 Capítulo II – Avaliação do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas.....	49
4.1 Introdução.....	49
4.2 Material e métodos.....	51
4.3. Resultados e discussão.....	55
4.3.1 Avaliações visuais.....	55
4.3.2 Avaliações dos parâmetros da produção e produtividade (Kg ha⁻¹).....	55

1).....	59
4.4 Conclusões.....	62
5 Considerações finais.....	63
Referências.....	64
Anexos.....	81

1 Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais tradicionais no Brasil, pois pode ser cultivado em diferentes condições de clima e de solo e, portanto, em todas as regiões do País, sendo explorado tanto em pequenas propriedades para subsistência, utilizando baixa tecnologia, bem como em propriedades onde se emprega alta tecnologia para suprir as indústrias (MARUCCI et al., 2010; SILOTO, 2002).

O progresso desenvolvimento no setor industrial com relação ao alimento e à expansão populacional, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, foram os principais responsáveis pelo aumento do consumo de milho e conseqüentemente da área plantada (REUNIÃO, 2013). O Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China, com uma área cultivada em mais de 15 milhões de hectares, com produção de aproximadamente 80 milhões de toneladas por ano e com uma produtividade média de 5.057Kg ha⁻¹ (CONAB, 2014).

O Rio Grande do Sul é o responsável por 6,6% dessa produção, apresentando importância socioeconômica, em termos de renda e emprego, contribuindo para a economia estadual sob a forma de produto consumido *in natura* pelo homem e animais, ração para aves, suínos e bovinos, e nas indústrias de transformação, para obtenção de centenas de produtos derivados (REUNIÃO, 2013).

Nos últimos anos a produção de milho tem sofrido grandes avanços, conseqüência das novas tecnologias disponíveis para os agricultores, da expansão da produção em áreas tradicionais, e de modificações nas formas de conduzir as lavouras, como por exemplo, o plantio direto, a continuidade do cultivo do milho durante todo o ano, em rotação com outras culturas, irrigação via pivô central e, aplicação de produtos químicos, especialmente para o controle de pragas (PINTO; PARRA; OLIVEIRA, 2004).

Toda essa tecnologia tem propiciado aumento de produtividade, no entanto, os problemas fitossanitários têm se agravado a cada safra, pois anualmente empresas de produção de sementes e instituições de pesquisa colocam no mercado dezenas de novas cultivares, e a grande heterogeneidade desses materiais em conjunto com as variações dos fatores bióticos e abióticos influenciam o

comportamento das cultivares em diferentes regiões (MARUCCI et al., 2010; SILOTO, 2002).

Dentre os fatores bióticos, as pragas constituem-se em elemento relevante, pois atacam a cultura desde a semeadura até a colheita, causando danos nas raízes, colmos, folhas e espigas com isso prejudicando seu desenvolvimento e conseqüentemente diminuindo a produção. São diversas as pragas prejudiciais a cultura do milho, mas a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a mais voraz, pois atinge o nível de dano econômico com freqüência, atacando as plantas tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva (AFONSO-ROSA; BARCELOS, 2012).

Segundo Cruz et al. (1998) a importância da lagarta-do-cartucho do milho deve-se não somente aos danos provocados, mas especialmente à dificuldade do seu controle o que tem levado ao uso cada vez mais freqüente de inseticidas, onde em várias regiões brasileiras, em alguns casos, a 10 aplicações numa única safra sem, no entanto, obter o controle desejado. As perdas estimadas em função do complexo de pragas é cerca de dois bilhões de dólares anuais, sendo em torno de 500 milhões somente devido a *S. frugiperda* (WAQUIL; VILLELA; FOSTER, 2002; WAQUIL; VILLELLA, 2003).

O controle da lagarta-do-cartucho é realizado, principalmente, com inseticidas químicos, e para isso é importante que se realize o monitoramento das áreas para determinar o momento correto de aplicação do inseticida, para assim reduzir tanto a perda causada pela praga como também o uso sistemático de inseticidas nos mais de 15 milhões de hectares de milho cultivados anualmente (REUNIÃO, 2013; WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008).

Como para a maioria das culturas, o milho já tem os níveis de controle de *S. frugiperda* definidos, entretanto, esses níveis são empíricos, e/ou levam em consideração apenas as fases de desenvolvimento em que a praga ataca (CARVALHO, 1970; CRUZ; TURPIN, 1982; EVANS; STANSLY, 1990) ou o nível de infestação de lagartas (WILLIAMS, DAVIS, 1990). Os genótipos utilizados também não são levados em consideração e, Evans; Stansly (1990) consideram que se os níveis de controle fossem determinados para cada cultivar plantado, não sendo fixos, uma grande economia seria feita no momento do controle da praga, uma vez que, resultados obtidos por Afonso-Rosa; Martins; Trecha (2011) evidenciaram que,

mesmo através da avaliação visual utilizando-se o nível de controle já estabelecido, ocorrem perdas na produção.

Além do controle com agrotóxicos, as técnicas de engenharia genética proporcionaram uma nova estratégia de controle da lagarta, plantas geneticamente modificadas com a introdução de um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, conferiram à planta de milho uma alta resistência ao ataque dos principais lepidópteros-praga da cultura (ARMSTRONG et al., 1995). No entanto, essa estratégia de manejo pode ter a sua eficiência reduzida, devido ao desenvolvimento de resistência das pragas ao gene *Bt* quando as premissas básicas do manejo de resistência não são cumpridas (MARTINELLI; OMOTO, 2005; MENDES et al., 2011).

Na tentativa de solucionar esse problema, as principais empresas multinacionais produtoras de sementes de milho começaram a avaliar a possibilidade de misturar uma porcentagem de sementes não transgênicas diretamente nos sacos com sementes transgênicas, denominada de “Refuge in the Bag - RIB”, mas ainda há escassez de informação científica relacionada a este tipo de tecnologia no Brasil (SILVEIRA, 2010).

Tendo em vista a importância da cultura do milho e a severidade do ataque de *S. frugiperda*, o objetivo deste trabalho foi reavaliar o nível de dano de *S. frugiperda* em milho convencional em casa de vegetação e fornecer subsídios para preservação da tecnologia *Bt* através da avaliação da proporção de sementes de milho convencional misturadas ao milho transgênico cultivadas em terras baixas.

2 Revisão de Literatura

2.1 Cultura do Milho

O milho é uma gramínea pertencente à família Poaceae, gênero *Zea* e espécie *mays*, provavelmente originário das Américas, sobretudo do México, sendo domesticado pelos povos da América Central, que por seleção desenvolveram inúmeras raças ao longo dos últimos 8.000 anos. A partir daí tornou-se parte integrante da dieta dos mais variados povos, o que incrementou sua importância econômica. Hoje o milho encontra-se disseminado por todo o mundo, com várias introduções feitas a partir de materiais americanos (PATERNIANI; CAMPOS, 1999; PATERNIANI; NASS; SANTOS, 2000).

A dispersão do milho pelas Américas está associada a um grande número de modificações adaptativas (BRIEGER et al.,1958). Já foram identificadas cerca de 300 raças de milho e, dentro de cada raça, milhares de variedades. A dispersão geográfica do milho assim como suas inúmeras formas de emprego e utilização fez com que seja considerada uma das espécies de maior variabilidade genética dentre as plantas cultivadas (PATERNIANI; NASS; SANTOS, 2000; TEIXEIRA, 2008).

É uma gramínea anual, do grupo C4, com uma ampla possibilidade de cultivo, devido à alta adaptabilidade aos mais variados tipos de ambiente, sendo considerada uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza. A pesquisa tem desenvolvido tipos tão diferentes de milho que seu cultivo é possível desde o Equador até o limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600m. Essa adaptabilidade, representada por genótipos variados, é paralela à variedade de sua utilização como alimento, forragem ou na indústria (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

No Brasil é cultivado na grande maioria das propriedades agrícolas. Na safra 2012/2013 o cereal apresentou um acréscimo na produção de 0,3% em relação à safra anterior. Apesar da área plantada e colhida ter sido reduzida, o rendimento médio aumentou 0,8%, promovendo o acréscimo da produção. Este acréscimo é resultado do emprego de tecnologias por parte dos produtores, visando aumentar a produtividade e, conseqüentemente, a lucratividade (IBGE, 2014).

No Rio Grande do Sul (RS) a cultura do milho é típica da pequena propriedade rural. Em 2006, o milho estava presente em 251.215 estabelecimentos rurais e, destes, 90,1% são provenientes de agricultores familiares, que possuem menos de 50 hectares. Esse percentual mostra que 59,7% das unidades de produção familiares cultivam milho, ou para consumo na propriedade ou para o mercado, enquanto que nas unidades não familiares 39,6% produzem o cereal (REUNIÃO, 2013).

Apesar de sua relevância na economia do País, a produtividade média brasileira de milho é normalmente inferior a 5,0t ha⁻¹ (IBGE, 2014). Este valor é muito baixo, se comparado com produtividade superior a 10,0t ha⁻¹ que tem sido obtida em condições experimentais. Esta lacuna existente entre a produtividade média obtida em lavouras e o que é verificado sob condições de alto manejo, pode ser atribuída a várias causas, como o uso de genótipos com baixo potencial produtivo de grãos e/ou não adaptados à região de cultivo, aplicação de baixas

doses de fertilizantes, épocas de semeadura imprópria, escolha do arranjo de plantas inadequado e controle ineficiente de plantas daninhas, doenças e pragas (SANGOI; SCHMITT; ZANIN, 2007).

A ação dos insetos-praga, sem dúvida, é um dos principais fatores que afetam a produtividade das lavouras de milho, por impedir o melhor aproveitamento do potencial produtivo dos híbridos e cultivares atualmente disponíveis, pois atacam a cultura desde a semeadura até a colheita, causando danos nas raízes, colmos, folhas e espigas (LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002; SANTOS et al., 2006).

Neste contexto, a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada a mais voraz, pois atinge o nível de dano econômico com frequência, atacando as plantas tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva. Em condições favoráveis, esta espécie pode aumentar muito a sua população e destruir as folhas, o cartucho do milho e inviabilizar a produção de espigas comerciais (FERNANDES et al., 2003; GRÜTZMACHER; MARTINS; CUNHA, 2000).

2.2 Bioecologia e importância econômica de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho

O primeiro relato como praga do milho data de Smith em 1797, na Geórgia, Estados Unidos, sendo originalmente descrita como *Phalaena frugiperda*, desde então mudou de nome várias vezes, até a denominação atual de *S. frugiperda*. É originária das regiões tropicais e sub-tropicais das Américas, sendo conhecida na América do Norte como “fall armyworm” (LUGINBILL, 1990); na América Central e do Sul como “gusano cogollero” (ESTRADA, 1960); e no Brasil de “lagarta-da-folha”, “lagarta-dos-capinzais”, “lagarta-do-cartucho” e “lagarta-dos-milharais” (CARVALHO, 1970).

Os adultos apresentam cerca de 35 a 38mm de envergadura. As fêmeas apresentam coloração marrom-acinzentada uniforme com mancha orbicular e reniforme pouco nítida. Já nos machos essas manchas são mais nítidas e a coloração marrom-acinzentada é mais escura. Nessa fase apresentam grande capacidade de dispersão e o hábito migratório da espécie resulta em uma elevada taxa de movimento. Em ambos os sexos, as asas posteriores são branco-hialinas. Os ovos são colocados em camadas, cobertos com escamas cinza que se

despreendem do abdome das fêmeas. A dispersão das lagartas, logo após a eclosão, ocorre através do fio de seda produzido por ela e com auxílio do vento. Apresentam hábito canibal a partir do terceiro instar. Passam por até 7 instares larvais, dependendo da temperatura e do tipo de alimento a que são submetidas, atingindo até 40mm de comprimento. Sua coloração pode ser verde-claro, marrom-escuro ou quase preta, possuindo três linhas finas branco-amareladas ao longo do dorso e quatro pináculos no dorso da porção final do abdome formando 4 cantos de um quadrado (GALLO et al., 2002; GASSEN, 1996; GRÜTZMACHER; MARTINS; CUNHA, 2000; MARTINS; BOTTON, 1998; MARTINS et al., 2000).

De acordo com Cruz (1995) a lagarta-do-cartucho apresenta ampla distribuição geográfica no Brasil. Isso ocorre em função da alimentação diversificada e disponível o ano todo, bem como, em função das condições climáticas favoráveis. Na fase larval é caracterizado como desfolhador das fases vegetativa e reprodutiva das plantas e causa significativa redução na produtividade das mesmas, podendo danificar culturas como milho, arroz, algodão, alfafa, amendoim, abóbora, batata, couve, espinafre, feijão, repolho, sorgo, trigo e tomate, além de outras gramíneas não forrageiras como grama-seda e capim-arroz, caracterizando-se assim um inseto polífago (CRUZ; MONTEIRO, 2004; LUGINBILL, 1928; PASHLEY, 1986, 1993).

Na cultura do milho, *S. frugiperda* se destaca como a principal praga, ocorrendo em todas as regiões produtoras e atacando desde a emergência até o pendoamento e espigamento (CRUZ, 1995). O nível de dano causado na cultura independe de estiagem ou precipitação pluviométrica, estando sua presença condicionada à ocorrência de temperaturas favoráveis (VIANA, 1996). No entanto, Waquil; Viana; Lordello (1982) e Grützmacher; Martins; Cunha (2000) afirmam que a ocorrência de lagartas é mais abundante em períodos de estiagem.

As lagartas pequenas danificam o limbo foliar das folhas mais novas, produzindo injúrias de “raspagem”, já as lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem no cartucho do milho (ÁVILA; DEGRANDE; GOMEZ, 1997). Os danos diminuem a área fotossintética da planta comprometendo a produtividade, uma vez que a redução causada pela praga durante a fase vegetativa, pode chegar a 60%, dependendo da cultivar e da época em que ocorre o seu ataque (CRUZ et al., 1996; CRUZ, 1999).

Dentre os fatores que tornam este inseto cada vez mais prejudicial podem ser citados a presença da cultura em diferentes estádios de desenvolvimento fenológico

durante grande parte do ano agrícola, formando uma ponte biológica, com abundância de alimentos; constantes reincidências; dificuldade de seu controle devido ao comportamento de alimentar-se dentro do cartucho do milho ou na espiga, onde fica protegido; elevada capacidade em colonizar grandes áreas em função da elevada capacidade de dispersão dos adultos, permitindo sua rápida disseminação ao longo da faixa de distribuição de seus hospedeiros (CRUZ, 2002; SPARKS, 1979).

Estes fatores ocorrem na região sul do RS, em condições de terras baixas, onde a cultura do milho é uma das melhores alternativas para a rotação de cultura com o arroz irrigado, principalmente para minimizar os índices de infestação de arroz vermelho (PORTO et al., 1998), assim a lagarta encontra em todas as épocas do ano agrícola, hospedeiros de sua preferência.

Para reduzir tanto as perdas causadas pelas pragas, como também o uso sistemático de inseticidas nos mais de 15 milhões de hectares de milho cultivados anualmente, têm-se pesquisado métodos alternativos com ênfase no controle biológico, cultural e através de cultivares resistentes, que utilizados em conjunto e em consonância a outras práticas, compõem o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (REUNIÃO, 2013; WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008).

No entanto, o controle químico ainda é o mais utilizado para o controle da lagarta-do-cartucho, com um amplo número de inseticidas registrados (MAPA, 2014a), sendo esses aplicados via pulverização e/ou tratamento de sementes (CRUZ, 2002). No entanto, esses inseticidas diferem quanto à seletividade, ou seja, causam impactos diferenciados ao ambiente e inimigos naturais da praga (MARTINELLI, 2006).

Apesar das muitas alternativas de controle estudadas e da grande quantidade de pesquisas com essa praga, a eficiência no controle muitas vezes tem sido prejudicada pela ineficiência no monitoramento. Segundo Bianco (1995) quando a tomada de decisão para o controle de *S. frugiperda* é precipitada, podem ocorrer desequilíbrios no agroecossistema e aumento do custo de produção, ao passo que, quando a decisão é tomada tardiamente, pode resultar em danos ao cultivo e dificuldades de controle.

Portanto, para se ter sucesso no controle dos insetos-praga, independentemente do método adotado, é necessário implementar o princípio básico do Manejo Integrado de Pragas (MIP), o monitoramento. O MIP é entendido

como o uso harmônico de múltiplas táticas de proteção de plantas e o manejo refere-se a um conjunto de regras (idealmente baseadas em considerações econômicas, sociais e ambientais) que orientam a tomada de decisão (geralmente pulverizar ou não um agrotóxico), com objetivo de manter a população do organismo nocivo abaixo de um limiar predeterminado (KOGAN, 1998).

2.3. Manejo Integrado de Pragas, Níveis de Dano Econômico (NDE) e Níveis de Controle (NC)

No passado, o controle de pragas baseava-se no método de aplicação em larga escala e continuada de inseticidas, devido ao baixo custo e largo espectro. Entretanto, com o tempo verificou-se que essa prática era inadequada por provocar contaminação no agroecossistema causando desta maneira, seu desequilíbrio. Sendo assim, nas décadas de 50 e 60, surgiu o conceito de controle integrado de pragas, cuja característica é empregar com maior amplitude as táticas de controle dos agentes nocivos (CARVALHO; BARCELLOS, 2012).

A idéia da aplicação do controle integrado foi proposta pela primeira vez por Hoskins; Borden; Michelbacher em 1939, mas somente em 1959, Stern et. al. na Califórnia colocaram de forma objetiva a proposta do uso do controle integrado de pragas, que seria a utilização de mais de um método de controle de forma compatível e levando em consideração os fatores ecológicos. Houve então um entendimento que as espécies-praga bem como seus problemas são fenômenos biológicos e deveriam ser considerados dentro da dinâmica de populações utilizando o máximo do controle natural (WAQUIL, 2002).

De acordo com Stern et al. (1959), entende-se por controle integrado, “o controle aplicado de pragas que combina e integra os controles químico e biológico”. Com o passar dos tempos, esse conceito tornou-se mais abrangente, até chegar à definição adotada pela FAO (1968): Controle integrado é definido como um sistema de manejo de organismos nocivos que utiliza todas as técnicas e métodos apropriados da maneira mais compatível possível para manter as populações de organismos nocivos em níveis abaixo daqueles que causam injúria econômica.

No entanto, no mesmo período, surgiu uma consciência ecológico-ambiental sobre o assunto, em função dos muitos programas de erradicação química não terem tido resultados satisfatórios, então, começou a ser desenvolvida uma filosofia ainda mais abrangente, denominada de Manejo Integrado de Pragas, o MIP

(ZAMBOLIM; JUNQUEIRA, 2004). Assim Kogan (1998) definiu Manejo Integrado como: “a escolha e o uso inteligente de táticas de controle que produzirão conseqüências favoráveis dos pontos de vista econômico, ecológico e sociológico”. Portanto, o Manejo Integrado é a otimização do controle de pragas de maneira lógica, tanto econômica quanto ecologicamente. Isso é conseguido por meio do uso compatível de diversas táticas, de tal modo a manter a população de organismos nocivos abaixo do limiar de dano econômico e a minimizar os efeitos colaterais deletérios ao meio ambiente (GALLO et al., 2002).

Os fundamentos do MIP baseiam-se em quatro elementos: na exploração do controle natural; dos níveis de tolerância das plantas aos danos das pragas; no monitoramento das populações para tomadas de decisão e na biologia e ecologia da cultura e de suas pragas. Estas premissas implicam no conhecimento dos fatores naturais de mortalidade, nas definições das densidades populacionais ou da quantidade de danos causados pelas espécies-alvo equivalente aos níveis de dano econômico (NDE) e de controle (NC). Outra variável importante seria o levantamento do nível de equilíbrio (NE) das espécies que habitam o agroecossistema em questão (WAQUIL; VIANA; CRUZ, 2002).

A partir disso, Nakano (2011) definiu a menor população de pragas que causaria dano como Nível de Dano Econômico (NDE), sendo necessária uma margem de segurança para evitar que a população de pragas cresça e venha causar prejuízos, sendo o momento correto da aplicação, denominada de Nível de Ação (NA) ou Nível de Controle (NC).

Em função da flutuação da densidade da espécie-alvo e de sua posição relativa a esses três níveis (NE, NDE e NC) ao longo do tempo, as espécies podem ser classificadas em pragas-chave (densidade populacional sempre acima do NDE), pragas esporádicas (densidade na lavoura raramente atinge o NDE) e não-pragas (a densidade da espécie em questão nunca atinge o NDE). Mais recentemente tem sido proposto também o nível de não-controle (NNC), ou seja, a densidade populacional de uma ou mais espécies de inimigos naturais capaz de reduzir a população da espécie-alvo a níveis não econômicos, dispensando assim, a utilização de medidas de controle (KOGAN 1998; WAQUIL; VIANA; CRUZ, 2002).

Para a utilização dos recursos acima mencionados na prática do MIP, o monitoramento da densidade populacional das espécies-alvo passa a ser peça fundamental. O objetivo é estimar periodicamente a densidade populacional ou

quantificar os danos da(s) espécie(s)-alvo. As técnicas de amostragem dos insetos dependem de cada espécie-alvo, do seu hábito, da cultura e do seu estágio de desenvolvimento. Tem sido usado: a contagem direta, a rede entomológica, o pano de batida ou armadilhas diversas, como as que contêm iscas de feromônio. O importante é que a amostragem utilize o mesmo método usado para definir os NC (WAQUIL; VIANA; CRUZ, 2002).

No Brasil, este programa foi proposto na década de 70, e está implementado para algumas culturas de importância econômica, a exemplo da soja, algodão, milho, citros, dentre outras frutíferas, com resultados promissores, implicando em redução do número de aplicações, refletindo em economia para o agricultor e minimização de efeitos adversos ao meio ambiente. Mas os entraves são basicamente os mesmos já citados para os Estados Unidos, tais como de caráter técnico, financeiro, educacional, de organização e social. Dentre os obstáculos técnicos, o monitoramento e a determinação dos níveis de controle são os principais entraves (PEDIGO, 2001).

Para os insetos-pragas no Brasil, a primeira tentativa de estabelecer as bases para a aplicação do MIP foi realizada por Nakano; Silveira Neto (1975) estabelecendo níveis de dano econômico (NDE) e níveis de controle (NC) para as principais pragas. Posteriormente, Cruz; Turpin (1982) revisaram esses níveis para as pragas do milho, definindo que o controle químico deve ser efetuada entre os estádios de 3 e 10 folhas desenvolvidas e quando forem constatadas 20% de plantas atacadas. No entanto, Cruz et al. (1986) definiram que para se calcular o NC das pragas, certos parâmetros, além do dimensionamento dos danos, devem ser considerados, como: população de plantas; estimativas da produção; estimativa do valor desta produção e o custo de controle da praga (inseticida + mão-de-obra). Além disso, enfatizam que estas estimativas diferirão de local para local.

Especificamente para a lagarta-do-cartucho em milho, Cruz (1995) estabeleceu vários níveis de controle (NC) em função da porcentagem de plantas atacadas, do custo do tratamento e do valor esperado da produção, construindo uma tabela com esses valores. Boiça Jr. et al. (1992) determinaram que quando as plantas de milho atingirem a nota 3 pela escala de Cruz; Turpin (1982) modificada (folhas furadas) o controle deve ser iniciado, entre os 35 e 45 dias após a semeadura.

Em uma avaliação dos danos causados por *S. frugiperda*, em milho, Silva (1995), observou que as lagartas reduzem maior área foliar nas infestações ocorridas nos estádios de 4 e 8 folhas, enquanto que no estádio de 12 folhas, as lagartas atacam os pendões e migram para outras plantas ou para o solo. As infestações que ocorreram no estádio de 4 folhas promoveram os menores rendimentos de grãos, entretanto, a época de infestação não afeta a produção das plantas não adubadas, que por si só produzem mais que as não adubadas. Assim definiu que para a cultivar P30F33, em uma amostragem de 100 plantas, a existência de 3 plantas danificadas no estádio V4, justifica o controle e para a cultivar P32R21 o número de plantas atacadas aumenta para 21.

No entanto, segundo Cruz (1999), em semeadura de safrinha, o nível de controle ocorre quando aproximadamente 10% das plantas apresentam o cartucho com sintoma de ataque. Para Grützmacher; Martins; Cunha (2000) o nível de controle econômico para plantas de milho com até 30 dias de idade é de 20% de plantas atacadas, o que corresponderia a nota 1 (folhas raspadas) de qualquer escala de notas, e para plantas entre 40 e 60 dias é de 10%.

Já Pinto et al. (2010) estabeleceram que quando 20% das plantas atingirem a nota 2 pela escala de Davis; Wiseman; Williams (1996), ou seja, quando 20% das plantas apresentarem pontuações e de uma a três lesões circulares pequenas (até 1,5 cm), se uma medida de controle for adotada, ocorre incremento na produção de matéria seca da parte aérea das plantas.

No entanto, nem sempre dados básicos, que geralmente requerem vários anos de observações em campo, para o estabelecimento de suas etapas (nível de dano econômico para tomada de decisão) são obtidos para as nossas condições, sendo, em muitos casos importados de trabalhos estrangeiros, com níveis de precisão incertos, e a extrapolação destas muitas vezes é generalizada, resultando em fracasso e conseqüentemente um número elevado de aplicações de inseticidas (COSTA, 2004).

Com o advento da biotecnologia, como uma estratégia adicional de controle em programas de MIP, vem sendo utilizado uma nova alternativa no controle de insetos-praga no milho, incluindo a lagarta-do-cartucho, o emprego de cultivares transgênicas, nas quais um ou mais genes introduzidos conferem resistência a uma determinada praga, ou grupo de pragas, e podem concomitantemente resultar em

benefícios agrônômicos, econômicos e ambientais (MARTINELLI; OMOTO, 2005; SHELTON; ZHAO; ROUSH, 2002).

2.4 Milho transgênico (Bt)

Em 1901 pesquisadores descobriram que um surto de mortalidade em larvas do bicho-da-seda no Japão foi devido a uma bactéria até então desconhecida. Em 1911, na Alemanha, o pesquisador Berliner conseguiu isolar e caracterizar essa bactéria, batizando-a de *Bacillus* (por sua forma cilíndrica) *thuringiensis* (em homenagem à região alemã da Turíngia) (HAIN; SCHREIER, 1996).

Trata-se de uma bactéria Gram positiva que ocorre naturalmente em diversos habitats e produz cristais de proteína, as delta endotoxinas, com propriedades inseticidas específicas. As várias raças, atualmente existentes, são classificadas com base em seu espectro de ação, suas toxinas e suas similaridades genéticas (BOUCIAS; PENDLAND, 1998; KUMAR; CHANDRA; PANDEY, 2008; SILVA-FILHO; FALCO, 2001). São mais de 50 diferentes famílias descobertas e organizadas por um código numérico, classificadas de acordo com sua alta especificidade em relação a cada grupo de insetos (CARNEIRO et al., 2009). Destas proteínas, as mais conhecidas são chamadas de proteínas cristal com a denominação *Cry*, a qual tem ação específica para formas jovens de insetos de algumas ordens, como Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (MENDES et al., 2008).

Essa bactéria vem sendo utilizada desde 1920 como bioinseticida na França e, hoje, é utilizada em vários países, sem causar problemas aos produtores, aos consumidores ou ao ambiente. No entanto, os produtos à base de *B. thuringiensis* (*Bt*) nunca ocuparam um lugar de destaque no mercado de vendas de inseticidas, principalmente devido a problemas relacionados à perda de estabilidade, à ausência de translocação nas plantas, ao espectro limitado de ação e à degradação rápida pela ação da luz ultravioleta (NAVON, 2000).

Com o avanço da biotecnologia, em 1981 novas perspectivas foram vislumbradas, entre elas a possibilidade de introduzir os genes *Bt* codificadores das toxinas nos genomas dos vegetais (De MAAGD; BOSCH; STIEKEMA, 1999; SCHNEPF; WHITELEY, 1981). Nos EUA, o primeiro milho geneticamente modificado, expressando a proteína *Cry1Ab* de *B. thuringiensis*, foi introduzido comercialmente em 1996, o qual vem sendo utilizado, com sucesso naquele país, uma vez que as proteínas são produzidas continuamente nos tecidos da planta e

protegidas contra a degradação por fatores ambientais (SIEGFRIED et al., 2007; SOBERÓN; GILL; BRAVO, 2009). A partir dessa data, outros genes codificando novas proteínas inseticidas foram inseridos no milho, propiciando o controle de diversas pragas, além da tolerância a herbicidas (LEITE et al., 2011).

No Brasil, as primeiras pesquisas com milho transgênico foram feitas em 1997 pela Syngenta, com o milho *Bt11* (SYNGENTA, 2010). Somente em 2007 ocorreu a liberação de três eventos para serem comercializados no milho: LibertyLink® com tolerância ao Glufosinato de Amônia; YeldGard® (MON 810) *Cry1Ab*; e *Bt11* (Syngenta) *Cry1Ab* PAT, estes dois últimos com o gene *Bt* para resistência a insetos da ordem Lepidoptera. Entretanto, essa decisão ficou sob efeito de uma liminar suspensiva até a decisão do Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS) pela liberação, ratificando a decisão da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio). Assim em fevereiro de 2008 o Registro Nacional de Cultivares do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento passou a aceitar registro de cultivares de milho-*Bt*, resultando na liberação do cultivo comercial, surgindo uma nova ferramenta eficiente e segura para proteção das plantas (WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008).

Hoje, no Brasil, estão liberados para comercialização eventos que expressam diferentes toxinas em milho resistentes a insetos, além da combinação desses eventos com outros de tolerância a herbicida (MAPA, 2014a). No registro das empresas, as pragas-alvo incluem três espécies: a lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smit, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae); a lagarta-da-espiga do milho, *Helicoverpa zea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca da cana-de-acúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Contudo, há dados na literatura indicando também a atividade dessas toxinas sobre a lagarta-elasma, *Elasmopalpus lignosellus* (MENDES; WAQUIL, 2009).

Cabe ressaltar que, no Brasil, a primeira geração de plantas *Bt*, foi composta basicamente por plantas que expressavam uma única proteína inseticida, no entanto, a segunda geração apresenta a expressão de duas ou mais proteínas inseticidas (BERNARDI, 2012).

O que torna as proteínas do *Bt*, eficientes no controle e seguras ao ambiente para uso é o seu modo de ação altamente específico, onde cada proteína atua de maneira singular em uma determinada ordem de insetos, ou seja, as proteínas *Bt* somente apresentam atividade em organismos que possuam sítios de ligação em

seu trato digestivo aos quais elas possam aderir, desencadeando o processo, que começa pela inibição da ingestão e da absorção dos alimentos, o que ocasiona, com a evolução dos sintomas, a ruptura das células da parede do tubo digestivo, provocando sua morte. Tais sítios são totalmente ausentes no trato digestivo de vertebrados, não apresentando nenhum efeito em animais superiores ou humanos (CARNEIRO et al., 2009; KUMAR; CHANDRA; PANDEY, 2008).

O uso de variedades resistentes a insetos-praga é provavelmente o método mais desejável e ecologicamente adequado para seu controle por manter a população desses organismos abaixo do nível de dano econômico, sem causar danos ou distúrbios ao meio ambiente e, ainda, sem trazer ônus adicional ao agricultor. Além disso, a facilidade de utilização, a não interferência nas demais práticas culturais e o fato de normalmente apresentar compatibilidade com outros métodos de controle, torna esta técnica adequada para ser incorporada em programas de Manejo Integrado de Pragas (VENDRAMIM; NISHIKAWA, 2001).

No entanto, como com qualquer tática de controle, o potencial para uso a longo prazo de culturas transgênicas pode ser limitado sem a implementação de adequado manejo de resistência do inseto (MRI), assim algumas premissas precisam ser respeitadas.

2.5 Técnicas para garantir a sustentabilidade da tecnologia Bt

A evolução da resistência é o resultado da pressão de seleção que, conseqüentemente pode ocasionar mudanças na composição genética das populações, aumentando a frequência relativa de alguns indivíduos pré-adaptados (CROW, 1957). Nesse contexto, resistência é definida como o desenvolvimento de uma habilidade herdada de um organismo de tolerar doses de tóxicos que seriam letais para a maioria dos indivíduos da espécie (CROFT; VAN DE BANN, 1988). No caso de plantas *Bt*, significa dizer que um indivíduo pode crescer e desenvolver se alimentando apenas da planta *Bt*, e em seguida, acasalar e produzir descendentes viáveis (ANDOW, 2008).

Evitar ou retardar o processo de estabelecimento de populações resistentes a uma cultura geneticamente modificada é uma etapa crítica para maximizar a durabilidade e, portanto, a sustentabilidade da tecnologia (GOULD; TABASHNIK, 1998). Nesse sentido o Manejo de Resistência de Insetos (MRI) é o termo usado para descrever um conjunto de práticas que devem ser adotadas com o objetivo de

reduzir o potencial de evolução da resistência nas populações das pragas-alvo de controle (DENNEHY, 1987; GOULD; TABASHNIK, 1998).

Dentre as estratégias de manejo tem-se a adoção da área de refúgio, monitoramento freqüente das lavouras para evitar ou retardar a seleção de lagartas resistentes às toxinas *Bt* e avaliação da eficiência do milho na redução da população de lagartas. Além do acompanhamento da população das lagartas e dos danos foliares causados no milho é importante conhecer a distribuição dos adultos durante a safra para que se possa compreender o movimento e dispersão das mariposas e prever infestações nas áreas de produção de milho (MARUCCI et al., 2010; WAQUIL; VILELLA, 2003).

Além disso, o uso dessa tecnologia não exige o agricultor de aplicar algum inseticida complementar em sua lavoura. Em regiões com alta infestação de lagarta-do-cartucho, onde se atinge com freqüência o nível de controle, recomenda-se o uso de inseticidas registrados para a cultura do milho, como medida adicional, desde que não sejam utilizados bioinseticidas à base de *Bt*. Caso não se adote o controle com inseticidas, poderão ocorrer injúrias severas nas plantas e, conseqüentemente, dano econômico na lavoura. Assim, a adoção de programas de MIP para o controle da *S. frugiperda*, mesmo no milho *Bt*, é de fundamental importância para o controle eficiente dessa praga na cultura (CRUZ, 2002; PEREIRA, 2008).

Nas embalagens de sementes de milho *Bt*, há um contrato através do qual o produtor, ao abri-las, assume a responsabilidade de seguir as normas, de coexistência, exigido por lei, e as de manejo da resistência fundamentais para o controle eficiente dessa praga na cultura (PEREIRA, 2008). Assim, o produtor que não utilizar a prática do manejo da resistência será, sem dúvida, a primeira vítima da quebra da resistência, não obtendo controle das pragas-alvo com os híbridos de milho *Bt* (MENDES; WAQUIL, 2009).

A regra de coexistência preconiza o isolamento da lavoura com milho *Bt* para garantir a não contaminação de lavouras de milhos vizinhos, onde esse isolamento pode ser de 100m da lavoura vizinha ou de 20m, desde que seja usada uma faixa de isolamento de 10 fileiras de milho convencional de igual ciclo e porte do milho transgênico utilizado. Já a área de refúgio consiste na semeadura de 10% da área cultivada com milho *Bt*, com plantas da mesma espécie, porém não transgênicas, de iguais porte e ciclo, para manter populações susceptíveis da praga alvo, em densidade suficiente para reduzir a chance de cruzamento entre heterozigotos

resistentes (WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008). Além disso essa área não deve estar a mais de 800m de distância das plantas transgênicas, uma vez que esta é a distância máxima verificada pela dispersão dos adultos da lagarta do cartucho no campo (VILARINHO, 2007).

Segundo Martinelli; Omoto (2005) a área de refúgio recomendada pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) é a melhor maneira de preservar os benefícios das plantas transgênicas. Esta recomendação é o resultado do consenso da CTNBio de que o cultivo do milho *Bt* em grandes áreas não resultará na seleção de biótipos das pragas-alvo resistentes às toxinas do *Bt* (CRUZ, 2002).

Todas as recomendações são no sentido de sincronizar os cruzamentos dos possíveis adultos sobreviventes na área de milho *Bt* com suscetíveis emergidos na área de refúgio. O refúgio estruturado deve ser desenhado de acordo com a área cultivada com o milho *Bt*. Para glebas com dimensões acima de 800m cultivadas com milho *Bt*, serão necessárias faixas de refúgio internas nas respectivas glebas (MENDES et al., 2009; LEITE et al., 2011).

No entanto, atualmente outra possibilidade vem sendo incorporada, o uso de pirâmides de genes, ou seja, usar a expressão de mais de uma toxina numa mesma cultivar. A base dessa estratégia é, algumas vezes, mencionada como “morte redundante”, isso porque os insetos adaptados a uma proteína morrem devido à segunda proteína e um inseto totalmente susceptível “morre duas vezes”, com isso permitindo diminuir o tamanho da área de refúgio a ser implantada (GOULD, 1998). Dessa forma, a teoria prediz que a evolução da resistência pode ser retardada, quando não há resistência cruzada entre as proteínas expressas na planta transgênica, além disso, esta alternativa, associada à utilização apropriada da área de refúgio, poderá prolongar a utilização dos genes de resistência (ZHAO et al., 2003, 2005).

A primeira planta de milho liberada, no Brasil, expressando mais de uma proteína, foi em outubro de 2009, com o evento MON89034, que expressa às proteínas *Cry1A105* e *Cry2Ab2*. A partir deste momento, observa-se uma tendência da indústria produtora de sementes em produzir variedades que expressem mais de uma proteína *Bt*, adotando essa estratégia como uma das principais para o manejo da resistência no Brasil (LEITE et al., 2011).

Dentre os benefícios dessa nova geração de transgênicos resistentes a insetos que apresentam duas ou mais proteínas *Bt* no mesmo híbrido está a diminuição das áreas de refúgio. Os híbridos existentes no mercado exigiam uma área muito grande de refúgio, de pelo menos 10%, que pode representar um prejuízo elevado para os agricultores, mas a nova geração de transgênicos possibilita a redução dessas áreas para 5% (ZANCANARO et al., 2012).

Com essa redução das áreas de refugio, a mistura de sementes, denominada de refúgio no saco ("Refuge in the bag" - RIB) torna-se uma alternativa economicamente viável. Esta consiste de uma mistura de sementes de plantas *Bt* e não *Bt* antes ou durante a semeadura, gerando uma lavoura formada de plantas resistentes e susceptíveis espalhadas ao acaso. A mistura de sementes, assim como o refúgio, age retardando a evolução da resistência por manter uma população susceptível para acasalamento espalhada dentro do campo (LEITE et al., 2011; ZANCANARO et al., 2012).

Dois importantes estudos investigaram a eficiência da mistura de sementes, em comparação com o refúgio estruturado. Mallet; Porter (1992) usaram um modelo computacional para mostrar que a mistura de sementes, na realidade, acelerou o desenvolvimento da resistência em comparação com campos onde só havia plantas *Bt*. Dois anos depois, um estudo contrário demonstrou que a mistura de sementes é preferível aos campos com somente cultura *Bt* (TABASHNIK, 1994). Ambos os estudos concordam que o refúgio estruturado ainda é melhor que a mistura de sementes e, em muitos casos, torna-se melhor quando combinado à mistura de sementes num único programa (LEITE et al., 2011).

O benefício dessa estratégia seria que os insetos susceptíveis poderiam migrar mais facilmente para se acasalarem com indivíduos resistentes expostos às plantas *Bt*, além disso, o refúgio estaria sendo inevitavelmente feito se as sementes viessem misturas na embalagem, simplificando o manejo e principalmente a certeza do cumprimento das normas de refúgio. Em contrapartida, a mistura de sementes facilitaria a mobilidade da praga entre as plantas, colocando os insetos susceptíveis em risco de exposição às plantas *Bt*, os quais poderiam ser mortos e, portanto, ficar em número reduzido (LEITE et al., 2011; ZANCANARO et al., 2012).

Segundo Zancanaro et al. (2012), após realizar o primeiro experimento no Brasil avaliando a tecnologia de refúgio no saco (RIB), concluiu que é uma alternativa interessante e deve ser considerada para substituir o método de refúgio

tradicional utilizado atualmente, na tentativa de retardar a evolução da resistência ao *Bt* nas principais pragas da cultura do milho, uma vez que a intensidade de danos, de maneira geral, diminui com a diminuição na proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia RIB, mas isso não se reflete em diferenças na produtividade.

3 Capítulo I - Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional em casa de vegetação

3.1 Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tornou-se uma alternativa de grande importância em terras baixas de clima temperado, colaborando na diminuição da ociosidade de terra e máquinas da propriedade, além de aumentar a rentabilidade e colaborar no manejo de solos hidromórficos. Entretanto, devido a fatores adversos à cultura do milho no agroecossistema de terras baixas, como os danos causados pela lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) há redução na produtividade (COSTA, 2004).

Os danos decorrentes dos ataques de *S. frugiperda* diminuem a área fotossintética da planta, comprometendo o vigor e, conseqüentemente, a produção de grãos, causando grandes perdas na produtividade em casos de infestações severas, principalmente na fase de 8 a 10 folhas (EMBRAPA, 1997). As perdas variam de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta, com a cultivar utilizado, local de semeadura, ocorrência da praga em áreas adjacentes, além das práticas agrônômicas adotadas (CRUZ, 1995; WAQUIL; VILELLA, 2003).

O dano nos primeiros instares larvais corresponde a raspagens das folhas. A partir do 3º instar a lagarta penetra no cartucho, furando-o em diversos pontos durante a alimentação, ocasionando os maiores danos (HYNES, 1942; LEIDERMAN; SAUER, 1953). Quando as plantas de milho estão na fase de florescimento e maturação, as lagartas se alimentam das inflorescências, prejudicando também os grãos da espiga, através da penetração pela sua base (BERTELS; ROCHA, 1950; RUPPEL et al., 1956).

Além do ataque ocorrer em todas as fases de desenvolvimento da planta de milho e em todas as estruturas aéreas, outro fator que a torna tão voraz é o alojamento dentro do cartucho, dificultando o controle, com isso as práticas inadequadas de controle ocorrem freqüentemente, predominando a utilização irracional de inseticidas químicos sintéticos (BUNTIN, 1986; WENDELL; GREENE, 1973).

O controle de *S. frugiperda* pode ser feito através de diversos métodos, mas o mais utilizado é o controle químico. Diversos inseticidas têm sido avaliados,

registrados e recomendados para o seu controle (MAPA, 2014a), no entanto, um dos grandes problemas ainda enfrentado pela agricultura mundial diz respeito ao uso constante e muitas vezes indiscriminado desses agrotóxicos, causando, em muitos casos, resistência dos insetos aos produtos (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001), redução ou eliminação da população de inimigos naturais (POLETTI; OMOTO, 2003), contaminação ambiental, além do aumento do custo de produção (VALICENTE; CRUZ, 1991).

Esses fatores acabam comprometendo os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP), o qual visa à utilização simultânea de diferentes estratégias de controle, com base na avaliação do ecossistema para que então se realize a tomada de decisão e a escolha da técnica de controle a ser empregada (CROFT, 1990; GEORGHIOU, 1983).

A decisão sobre quando controlar a lagarta-do-cartucho depende do nível de infestação, o custo do controle e o valor monetário da produção. Maior valor monetário da produção e menor custo do controle levam à decisão sobre o controle da praga com um nível de infestação mais baixo. Esse nível de infestação tradicionalmente tem sido determinado pela amostragem do número aparente de plantas atacadas. Muitas vezes esse número tem sido sub ou superestimado, dependendo da época em que se processa a amostragem. Para aumentar a precisão na tomada de decisão de controle é necessária a determinação, o mais cedo possível, de quando a praga chegou à área alvo e, preferencialmente, a detecção da praga antes que qualquer tipo de dano seja verificado (CRUZ; FIGUEIREDO; SILVA, 2010).

Portanto, para se alcançar êxito no controle de *S. frugiperda*, deve-se planejar as ações de manejo, começando pelo monitoramento que pode ser realizado de duas maneiras, monitorando os adultos com ferômonio sexual sintético, ou então, através da avaliação visual do dano e de lagartas em plantas. Para o uso de armadilhas com ferômonio deve-se utilizar, no mínimo, uma armadilha para 5 hectares e o nível de controle ocorre 10 dias após a captura de três mariposas (CRUZ, 1995; MAPA, 2014a). Para avaliação visual das plantas de milho com até 30 dias deve-se controlar o inseto quando houver 20% das plantas atacadas e para plantas entre 40 e 60 dias a porcentagem é de 10% (GRÜTZMACHER; MARTINS; CUNHA, 2000).

No entanto, resultados obtidos por Afonso-Rosa; Martins; Trecha (2011) evidenciaram que tendo-se como base 10% de plantas infestadas desde o plantio, ainda ocorrem perdas na produção, tornando-se importante a definição da época adequada ao controle do inseto. Deve-se considerar que o cenário entomológico atual é distinto daquele da década de 70 ao início da década de 90, quando os níveis de controle foram estabelecidos, principalmente no agroecossistema de terras baixas, além dos inúmeros materiais de milho utilizados (COSTA, 2004).

Dessa maneira, alguns trabalhos têm sido realizados em diversos países na tentativa de fornecer ao agricultor medidas mais adequadas no manejo dessa praga. Os trabalhos têm sido realizados, em sua maioria, com desfolhamentos e infestações artificiais, visando à determinação de parâmetros que possam estabelecer de um modo seguro o momento exato para as aplicações de inseticidas. Cabe ainda ressaltar que os níveis a serem estabelecidos, variam de espécie para espécie, de cultura para cultura e também de acordo com as cultivares, pois existem aqueles mais e menos tolerantes a certas pragas (NAKANO, 2011).

Neste sentido, considerando o exposto acima, o objetivo deste trabalho foi reavaliar o nível de dano de *S. frugiperda* em milho convencional em casa de vegetação.

3.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Estação Experimental de Terras Baixas (ETB) da Embrapa Clima Temperado (CPACT), no município de Capão do Leão, RS (31°48'15.49"S, 52°24'44.04"O e altitude de 16m), no ano agrícola de 2013/14. Adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso com 5 repetições. Os tratamentos constaram de 2 fatores: fator 1 estádios fenológicos da planta em que ocorreu a infestação [VE-V12; V2-V4; V4-V8 e V8-V12 que correspondem a emergência a doze folhas, dois a quatro, quatro a oito e oito a doze folhas completamente expandidas, respectivamente (RITCHIE; HANWAY; BENSON, 2003)] e; fator 2 níveis de densidade populacional do inseto-praga (1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta⁻¹), além da testemunha (0 lagarta planta⁻¹).

As lagartas foram coletadas a campo em áreas cultivadas com milho na ETB (31°49'07.09"S, 52°28'02.98"O e altitude de 15m) e mantidas em laboratório em dieta artificial de Greene; Lepla; Dickerson (1976), e a metodologia utilizada foi a descrita por Parra (2001) utilizando-se tubos de vidro com 2,5 cm de diâmetro por

8,5 cm de altura, na qual a dieta é vertida para posterior inoculação das lagartas, onde as mesmas permaneceram até a fase de pupa, sendo mantidas em condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotofase (14 horas).

As pupas foram acondicionadas em caixas Gerbox® (12 x 12 x 4 cm) com papel de filtro no fundo para a manutenção da umidade, onde permaneceram até a emergência dos adultos e mantidas em câmaras climatizadas tipo B.O.D. ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 20\%$ e 14 h de fotofase). Os adultos após a emergência foram mantidos em gaiolas cilíndricas de PVC (20 x 20 cm), revestidas internamente com papel de filtro (substrato de oviposição), sendo fechadas na superfície superior com tecido tipo “voile” e alimentadas com solução aquosa de mel a 10%. As posturas foram retiradas do substrato de oviposição a cada dois dias e acondicionadas em placas de Petri contendo dieta artificial, até a eclosão das lagartas.

A unidade experimental e de observação foi composta por balde plástico com capacidade para 20L contendo solo classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico solódico, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2006). Foram distribuídas três sementes do híbrido BG7060 em cada balde e após a emergência das plantas foi realizado desbaste, deixando-se uma planta por balde. A adubação foi realizada na instalação do experimento, de acordo com a análise do solo. Os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com as recomendações técnicas da cultura (REUNIÃO, 2013).

A primeira infestação (estádio VE-V12) foi realizada no dia 25 de novembro de 2013 quando as plantas emergiram. A segunda infestação (estádio V2-V4) foi realizada no dia 04 de dezembro de 2013 aos 9 dias após a emergência das plântulas (DAE). A terceira infestação (estádio V4-V8) ocorreu no dia 09 de dezembro de 2013 (14 DAE) e a última infestação (estádio V8-V12) aconteceu dia 07 de janeiro de 2014 (43 DAE). As infestações de cada estágio fenológico foram realizadas em plantas diferentes, manualmente com auxílio de um pincel, onde as lagartas de primeiro instar foram depositadas no cartucho da cada planta, permanecendo nas mesmas até o fim do estágio correspondente a cada tratamento (Figura 1A). Após a infestação, as plantas foram cobertas por gaiolas de estrutura de arame galvanizado (1,20 x 0,60 m diâmetro) revestida com tecido do tipo “voile” para evitar escape dos insetos (Figura 1B).



Figura 1 - Inoculação de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho cultivar BG7060 (A) e baldes protegidos para evitar o escape das lagartas (B). Capão do Leão, RS, 2013/14. Créditos: Leticia Hellwig.

Ao final de cada período de infestação foram atribuídas notas de acordo com o dano causado na folha pela lagarta, através, de avaliação visual da intensidade de dano, obedecendo à escala de notas de Davis (Tabela 1) (DAVIS; NG; WILLIAMS, 1992).

Tabela 1 - Escala para atribuição de notas de danos causados por *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho (DAVIS; NG; WILLIAMS, 1992).

Notas	Descrição dos danos
0	Sem danos visíveis.
1	Pequenas pontuações (tipo alfinete ou raspagem) em poucas folhas.
2	Pequenos danos em forma de furos em poucas folhas.
3	Danos em forma de furos em várias folhas.
4	Danos em forma de furos em várias folhas e lesões em poucas folhas.
5	Lesões em várias folhas.
6	Grandes lesões em várias folhas.
7	Grandes lesões em várias folhas e porções comidas em poucas folhas.
8	Grandes lesões e grandes porções comidas em várias folhas.
9	Grandes lesões e grandes porções comidas na maioria das folhas.

Dez dias antes da colheita, procedeu-se a medição da altura das plantas e da inserção das espigas, com régua graduada, expressando os valores em centímetros. Adotou-se como critério, para altura das plantas, a distância entre o nível do colo da planta e o colar da última folha adulta, e para inserção da espiga, a distância entre o nível do colo da planta e a base da espiga superior.

A colheita foi realizada após a maturação fisiológica dos grãos que, segundo Viégas; Peeten (1987) ocorre quando há o surgimento de uma camada preta na base e 50 a 60 dias após a fecundação. Desta forma, aos 167 dias após a semeadura, iniciou-se a colheita à medida que as plantas apresentavam-se com coloração palha devido à perda de umidade. Foram colhidas manualmente, as espigas de cada planta, sendo em seguida, acondicionadas individualmente em sacos de papel, devidamente identificados.

Após o despalhamento manual, foi efetuada a contagem do número de fileiras de grãos por espiga, número de grãos por fileira por espiga, número de grãos por espiga e a medição do comprimento, bem como diâmetro, através de uma escala graduada em centímetros e de um paquímetro, respectivamente. Posteriormente as espigas foram debulhadas manualmente e o diâmetro do sabugo medido com paquímetro e o peso de grãos por planta, em balança de precisão, expresso em gramas.

Para a análise estatística, os valores atípicos (*outliers*) foram identificados com a plotagem dos resíduos estudentizados externamente (RStudent) versus valores preditos (variável Y) e também, pelo gráfico da Distância de Cook. A partir do RStudent, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados (BARNETT; LEWIS, 1994; ROUSSEEUW; LEROY, 1987). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica.

Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p < 0,05$). Constatando-se significância estatística, os efeitos da densidade populacional do inseto-praga foram avaliados por modelo de regressão ($p \leq 0,05$) representado pela equação: $y = y_0 + ax + bx^2$, onde: y = variável resposta; y_0 = variável resposta correspondente ao ponto mínimo da curva; a = valor máximo estimado para a variável resposta; b = declividade da curva; x = densidade populacional do inseto-praga; e = constante. Quando não ocorreu ajuste de equação, as densidades populacionais do inseto-praga foram comparadas com intervalos de confiança a 95%. Esses intervalos foram plotados no gráfico e as diferenças foram consideradas significativas quando não houve sobreposição entre as barras verticais. A presença de correlações entre as variáveis dependentes do

estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (SAS INSTITUTE, 2002).

O Nível de dano (ND) e de Controle (NC) foi determinado a partir da equação de regressão. O percentual de dano equivalente ao nível de controle foi obtido utilizando-se a fórmula $%D=100 \times Ct/V$ (NAKANO, 2011), onde Ct é o custo do tratamento e V é o valor da produção em dólar.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Danos nas folhas

Não foi possível avaliar os danos nas folhas no estágio fenológico VE-V12, pois as plantas de todos os níveis de infestação foram totalmente consumidas, uma vez que as plantas em VE são extremamente sensíveis a fatores adversos e devido a voracidade da lagarta-do-cartucho, mesmo quando presente somente uma lagarta.

A cultivar BG7060, demonstra que no estágio fenológico V2-V4 as médias de nota de dano dos níveis de infestação de 1 e 3 lagartas planta⁻¹ não diferiram significativamente, apresentando nota de dano baixo, no entanto, a partir do nível de infestação de 5 lagartas planta⁻¹ ocorre um acréscimo na nota de dano quanto maior o nível de infestação de lagartas, apresentando médias de nota igual ou superior a 4 (Figuras 2 e 3A), ocorrendo nas infestações maiores, mais de 3% das plantas cortadas, sendo que as lagartas permaneceram nas plantas apenas durante 5 dias, ficando evidente que o maior número de lagartas neste estágio fenológico ocasionou danos severos, uma vez que a planta se encontra em um estágio sensível. Cabe ainda ressaltar que os danos nesse estágio são consideráveis, pois todas as folhas e espigas que a planta eventualmente irá produzir, estarão sendo formadas no estágio de 3 folhas, logo o número máximo de grãos ou a produção potencial serão definidos no referido estágio (MAGALHÃES; DURÃES, 2006).

De acordo com Linduska; Harrison (1986) as plantas infestadas precocemente são menos tolerantes aos danos causados pela lagarta em relação às plantas infestadas tardiamente, além de serem preferidas e apresentarem altas reduções na produtividade. Entretanto, de acordo com Fagundes et al. (1976) e Fagundes et al. (1977), em desfolhas das plantas nos períodos iniciais de desenvolvimento, a cultura do milho não teve sua produção reduzida. A esta mesma conclusão chegou Araújo; Galvão; Fontes (1988) que estudaram cinco níveis de

desfolha em cinco estádios de desenvolvimento da cultura. Evidenciando com os dados obtidos por Carvalho (1970) que as perdas na produção dependem do genótipo, fase de desenvolvimento da cultura quando se deu o ataque e nível de desfolha sofrido pela planta.

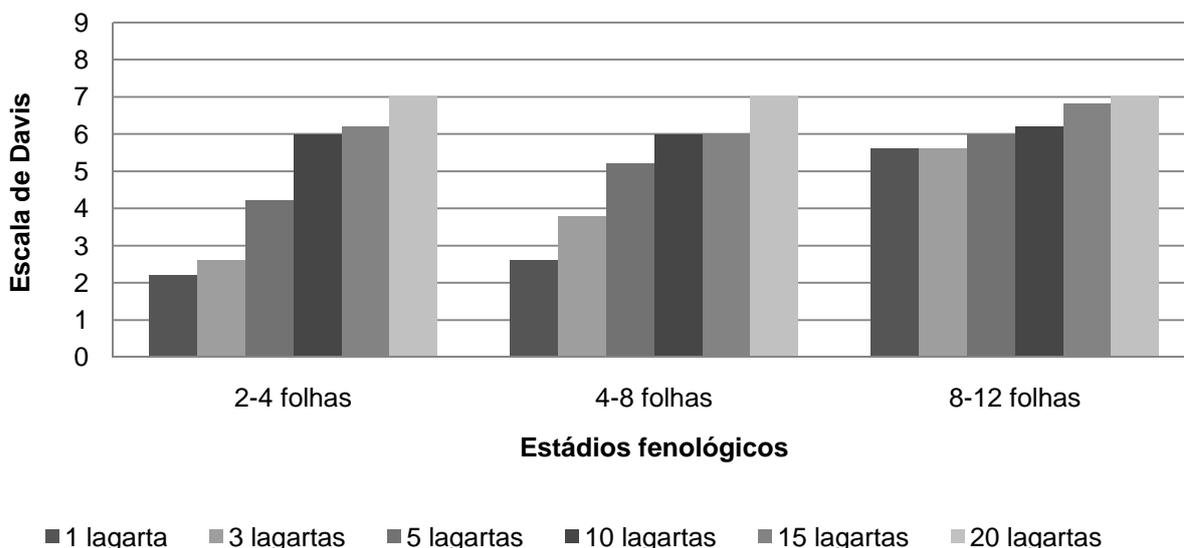


Figura 2 - Médias das notas atribuídas em função do dano foliar de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais do inseto-praga (1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta⁻¹) nos estádios fenológicos de V2-V4, V4-V8 e V8-V12. Capão do Leão, RS, 2013/14.

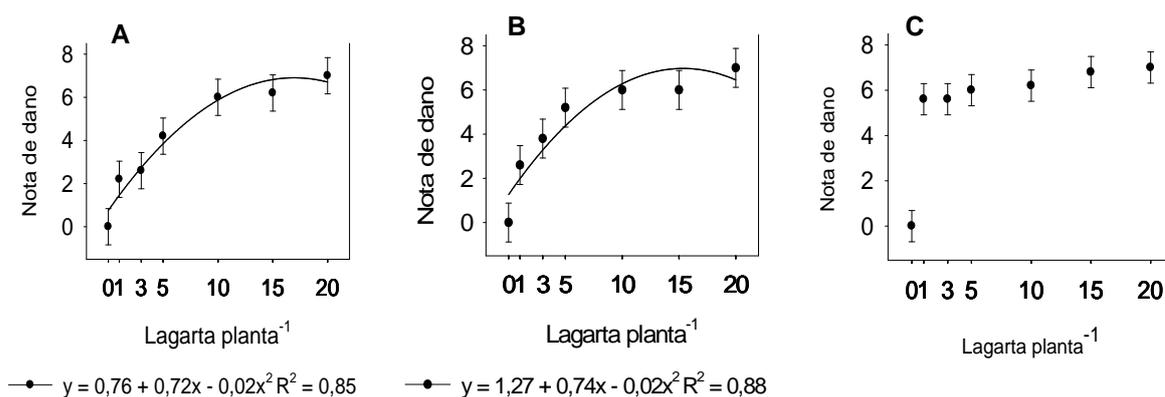


Figura 3 - Notas atribuídas em função do dano foliar de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais do inseto-praga (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta⁻¹) nos estádios fenológicos V2-V4 (A), V4-V8 (B) e V8-V12 (C). Capão do Leão, RS, 2013/14. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

Já no estágio fenológico V4-V8 as lagartas permaneceram nas plantas durante 29 dias, ocasionando danos severos, com todas as notas acima de 5 nos níveis de infestação a partir de 5 lagartas planta⁻¹ (Figura 2), comprometendo o vigor das plantas. Apenas nos dois primeiros níveis de infestação os danos foram menores, ou seja, ocorre um acréscimo na nota de dano quanto maior o nível de infestação de lagartas, ficando evidente que o maior número de lagartas provocou maiores danos (Figura 3B).

Carvalho (1970) também observou que os maiores danos foliares por *S. frugiperda* foram ocasionados em plantas mais desenvolvidas. Corroborando com os resultados encontrados por Silva (1995) que as lagartas reduzem maior área foliar nas infestações ocorridas nos estádios de 4 e 8 folhas. No entanto, de acordo com Cruz; Turpin (1982) danos foliares severos não levam necessariamente, a uma perda de produção já que infestações realizadas no estágio de 4 a 6 folhas, embora tenham resultado em maior índice de dano foliar, proporcionaram baixo percentual na redução do rendimento.

Para os danos foliares verificados no estágio fenológico V8-V12 (cartucho bem desenvolvido) a média de notas de danos foram altas em todos os níveis de infestação (Figura 2), não diferindo significativamente entre si (Figura 3C). Nesse estágio as lagartas permaneceram 17 dias nas plantas. Resultados semelhantes foram encontrados por Cruz; Turpin (1982) que verificaram maior suscetibilidade das plantas de milho na fase fenológica de 8 a 10 folhas. Os autores encontraram redução no rendimento da produção da ordem de 18,7%, devida principalmente, ao decréscimo do número de grãos.

Esse período é extremamente crítico, uma vez que no estágio V8 o número de fileiras de grãos é definido e devido à conformação da planta, característica da fase do “cartucho”, é considerado um estágio limite, pois a partir de então se torna mais difícil de realizar pulverizações, conferindo à cultura do milho elevada suscetibilidade ao ataque da lagarta-do-cartucho, exigindo constante vigilância, sendo a época fundamental para o controle da praga, visando evitar danos econômicos, principalmente em relação ao ataque nas partes reprodutivas do milho, uma vez que um ataque severo de pragas nessa época pode acarretar quedas na produtividade da ordem de 10 a 25% (MAGALHÃES; DURÃES, 2006; BAGATINI, 2012).

De acordo com Crookston; Hicks (1978) a perda drástica de tecidos vegetativos de uma planta, em época relacionada ao desenvolvimento de estruturas reprodutivas, parece induzir uma rápida mudança nas relações fonte-dreno, ocasionando um aumento do número de grãos por espiga e conseqüentemente aumento da produção. Além disso Wilson; Wiseman; Reed (1995) acrescentam que quanto mais tardio ocorrer o ataque da lagarta-do-cartucho maior é a capacidade da planta de milho se recuperar, principalmente em função da possibilidade de ocorrer algum tipo de resistência, sofrendo conseqüentemente um menor dano.

3.3.2 Avaliações dos parâmetros da produção

Para os estádios fenológicos de V2-V4 e V8-V12 não foi possível realizar análise estatística em função do número de repetições não ter sido considerado suficiente, devido a fatores estressantes (temperaturas elevadas) relacionado à casa de vegetação.

No estágio V4-V8, cultivar BG7060, para as variáveis altura de planta ($F = 1,42$; $p = 0,257$, $CV = 8,0\%$) e comprimento da espiga ($F = 1,87$; $p = 0,174$, $CV = 13,0\%$) não ocorreram diferenças significativas para o fator de tratamento densidade populacional do inseto-praga (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias das variáveis relacionadas à produtividade de milho, cultivar BG7060 no estágio fenológico V4-V8, em função dos danos causados por *Spodoptera frugiperda*. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Variáveis	Lagartas/planta						
	0	1	3	5	10	15	20
Altura de plantas (cm)	220	221	213	194	201	211	210
Altura de inserção de espiga (cm)	120	113	117	105	107	97	135
Fileira de grãos/espiga	10,80	12,20	7,40	7	7	12	11
Grãos/fileira	15,40	12,80	6,20	9,60	6,50	11	18
Grãos/espiga	170,40	163,80	62,20	96,20	78,50	137	198
Diâmetro de espiga (cm)	3,55	3,71	3,71	3,71	3,61	3,40	3,80
Diâmetro do sabugo (cm)	2,49	2,46	2,43	1,92	2,27	2,05	2,38
Comprimento da espiga (cm)	12,90	10,60	11,45	9,20	10,25	11,17	10,50
Peso de grãos/planta (g)	42,92	43,72	23,21	20,56	29,10	23,44	19,47

Para a variável altura de inserção da espiga não foi constatada diferença significativa entre as plantas infestadas e a testemunha, no entanto, à medida que aumentou o número de lagartas inoculadas por planta, obteve-se um decréscimo na altura de inserção da espiga, retomando o crescimento a partir de 10 lagartas planta

¹ (Figura 4A). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva (1995) que também não verificou diferenças significativas na altura de inserção da espiga de plantas adubadas e não adubadas em relação a suas testemunhas quando foram infestadas com lagartas. Porém Costa (2004) verificou diferença significativa da testemunha quando a planta foi submetida à maior número de lagartas (2 lagartas planta⁻¹).

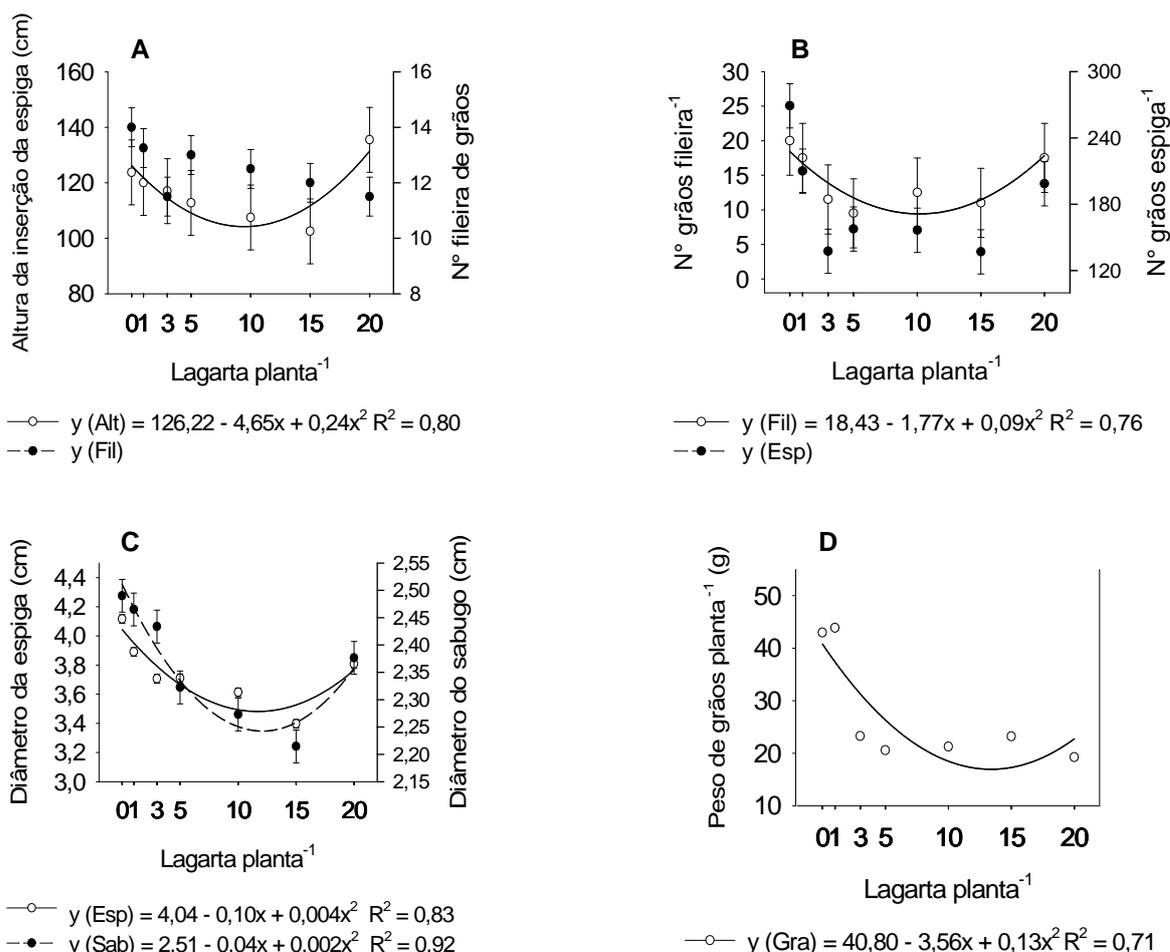


Figura 4 - Altura da inserção da espiga (cm) (Alt - A) e número de fileira de grãos (Fil - A), número de grãos fileira⁻¹ (Fil - B) e de grãos espiga⁻¹ (Esp - B), diâmetro da espiga (cm) (Esp - C) e do sabugo (cm) (Sab - C) e peso grãos planta⁻¹ (Gra - D) de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda* (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagarta planta⁻¹) no estágio fenológico V4-V8. Capão do Leão, RS, 2013/14. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

Ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos com 5, 10 e 15 lagartas de *S. frugiperda* por planta e o tratamento com 20 lagartas, obtendo uma maior altura de inserção das espigas (135 cm) (Tabela 2) quando as plantas foram submetidas à infestação de 20 lagartas (Figura 4A), corroborando com os resultados obtidos por Lu; Chen (1982) que observaram um aumento na altura de inserção da

espiga, quando plantas no estágio de 5 folhas sofreram desfolha artificial. Este fenômeno caracteriza a reação da cultivar aos danos foliares provocados por *S. frugiperda*, visto que existe, dependendo da época de ataque da praga, a possibilidade de recuperação dos danos causados, mas essa recuperação não necessariamente ocorre nas folhas (COSTA, 2004).

Para a variável número de fileiras de grãos não houve ajuste para nenhum modelo, sendo assim as densidades populacionais do inseto-praga foram comparadas com intervalos de confiança a 95%. A partir disso, foi verificada diferença significativa em função das infestações, nas quais 3, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹ diferiram significativamente da testemunha (Figura 4A), com 11,52; 12,55; 12,04 e 11,54 fileiras de grãos, respectivamente, enquanto que, a testemunha apresentou 14,04 fileiras de grãos, valor este aproximado ao estabelecido (16 fileiras de grãos) para o material, de acordo com o Registro Nacional de Cultivares (RNC: 22461) (MAPA, 2014b).

O menor número de fileira de grãos, comparado à testemunha, pode ser devido ao fato que neste estágio, V4-V8, a variável é definida na planta de milho (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). Além disso, infere-se que um maior número de lagartas planta⁻¹ produziu maiores danos foliares, e conseqüentemente, recebeu nota com maior índice. Este comportamento corrobora com a análise de correlação de Pearson (Tabela 3), do qual o número de fileiras de grãos e notas de dano correlacionaram-se negativamente, levando a crer que maiores notas no estágio V4-V8 para a cultivar em questão ocasiona um menor número de fileiras de grãos.

O número de grãos por fileira apresentou uma pequena redução com o aumento do número de lagartas planta⁻¹ de milho, onde a partir de 10 lagartas planta⁻¹ esse decréscimo cessou e ocorreu novamente um aumento do mesmo chegando a valores aproximados ao da testemunha (Figura 4B). Segundo Balbinot Jr; Bialeski; Backes (2005) o número de grãos por fileira é um dos componentes morfológicos da espiga que apresenta maior correlação com a produtividade.

Através dos dados obtidos para a variável número de grãos por espiga não houve ajuste de equação, sendo assim as densidades populacionais do inseto-praga foram comparadas com intervalos de confiança a 95%. Para esta variável ocorreram diferenças significativas em todos os tratamentos com lagartas de *S. frugiperda* por planta e a testemunha (Figura 4B). Diferente do que foi observado por Silva (1995), onde as infestações não influenciaram o número de grãos por espiga. Cabe ressaltar

que os comportamentos observados corroboram com a análise de correlação de Pearson, do qual o número de grãos por fileira e número de grãos por espiga e as notas de dano correlacionam-se negativamente (Tabela 3), visto que o bom desenvolvimento das plantas no estágio V4-V8 é definitivo para uma boa produção de espigas.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes em função das densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda* (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹) no estágio fenológico V4-V8 da cultivar de milho BG7060. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Variáveis	Altura das plantas	Altura da inserção da espiga	Fileira de grãos	Grãos fileira ⁻¹	Grãos espiga ⁻¹	Diâmetro espiga	Diâmetro sabugo	Comprimento, espiga	Peso grãos planta ⁻¹	Nota de dano
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
(1)	1,000	0,488* 0,029**	-0,226 0,419	0,226 0,418	0,247 0,357	0,232 0,387	-0,138 0,609	0,264 0,306	0,589 0,073	-0,303 0,133
(2)		1,000	-0,352 0,218	0,327 0,253	0,328 0,214	-0,096 0,744	0,179 0,541	0,090 0,760	-0,225 0,592	-0,145 0,519
(3)			1,000	0,708 0,007	0,788 0,0005	0,602 0,014	0,131 0,641	-0,016 0,958	0,321 0,483	-0,586 0,017
(4)				1,000	0,985 <0,0001	0,808 0,0008	0,063 0,837	-0,036 0,907	0,740 0,153	-0,504 0,056
(5)					1,000	0,655 0,008	-0,048 0,871	-0,028 0,925	0,328 0,472	-0,481 0,050
(6)						1,000	0,397 0,142	-0,079 0,789	0,606 0,149	-0,428 0,086
(7)							1,000	0,471 0,076	0,633 0,127	-0,315 0,219
(8)								1,000	0,518 0,292	-0,528 0,024
(9)									1,000	-0,861 0,0007
(10)										1,000

* Coeficientes de correlação de Pearson. ** Valores de p .

Em relação ao diâmetro da espiga foram constatadas diferenças significativas de todos os tratamentos representados pelo número de lagartas planta⁻¹ em relação à testemunha, porém o nível de infestação de 3 lagartas planta⁻¹ não diferiu do nível de infestação de 5 lagartas (Figura 4C). Resultados semelhantes foram encontrados por Muro; Mateo; Alberdi (1990), quando trabalharam com desfolhas artificiais de 33%, 66% e 100%, em vários estágios de desenvolvimento do milho, observaram que o diâmetro basal das espigas foi reduzido por todos os tratamentos com danos.

A análise entre o número de lagartas planta⁻¹ e o diâmetro da espiga, evidenciou que o diâmetro da espiga decresceu à medida que aumentou o número de lagartas planta⁻¹. Esse comportamento se deu até a infestação de 15 lagartas planta⁻¹, após ocorreu um pequeno acréscimo do diâmetro da espiga (Figura 4C). Comportamento semelhante foi observado para o diâmetro de sabugo, onde

também se obteve um decréscimo do mesmo, conforme houve aumento dos níveis de infestação de lagartas, comportamento que se manteve até o nível de infestação de 15 lagartas planta⁻¹. No entanto, houve diferença significativa no diâmetro do sabugo, somente quando comparados aos maiores níveis de infestação (5, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹). Obviamente os maiores diâmetros encontrados foram para testemunha, 1 e 3 lagartas planta⁻¹, com 2,49; 2,46 e 2,43 cm, respectivamente (Figura 4C).

Ocorreram diferenças significativas entre a testemunha e os demais tratamentos no peso de grãos por planta quando submetido à infestações artificiais de *S. frugiperda*, exceto para o nível de infestação de uma 1 lagarta planta⁻¹, ou seja, à medida que o número de lagartas planta⁻¹ aumentou, ocorreu um decréscimo gradativo do peso de grãos por planta, comportamento observado quando infestado com até 15 lagartas planta⁻¹ (Figura 4D).

Esses resultados corroboram, com os de Evans; Stansly (1990) que observaram reduções na produtividade quando as plantas foram infestadas duas semanas após a emergência. Morrill; Greene (1974); Cruz; Turpin (1982) e Silva (1995) constataram que as menores produções foram associadas às infestações nos estádios iniciais e médios da planta, fato este verificado também neste trabalho. Logo, constata-se que a presença do inseto quando a planta se encontra com 8 folhas exerce maior influência sobre a queda da produtividade, concordando com Cruz; Turpin (1982) e Davis; Wiseman; Williams (1996), que também apontam infestações ocorridas neste período com as que tiveram maior importância na diminuição da produtividade.

No entanto, é possível observar que quando a planta foi submetida a uma infestação de 20 lagartas planta⁻¹ obteve-se um pequeno acréscimo na produção de grãos quando comparado as outras infestações, isso pode ser devido a um comportamento típico da espécie, o canibalismo, assim diminuindo o número de lagartas planta⁻¹ e conseqüentemente diminuindo as perdas. O mesmo pode estar relacionado a diversos fatores como, a alimentação, densidade populacional, disponibilidade de indivíduos vulneráveis e estresse, geralmente o comportamento canibal tem base genética, porém sendo controlado ou induzido pelo ambiente (FOX, 1975).

Ao realizar a comparação entre as densidades populacionais do inseto-praga no estágio fenológico V4-V8 observou-se que quando as plantas foram expostas a 5

e 20 lagartas planta⁻¹ houve decréscimos no peso de grãos por planta, respectivamente, de 35,66 e 47,06% quando comparados ao controle (0 lagarta planta⁻¹) (Figura 4D). Em função do ciclo da cultivar BG7060 ser precoce, provavelmente não houve condições fisiológicas da planta manifestar algum tipo de resistência, aumentando com isso prejuízos à produtividade.

Conforme Andrade (1995), apesar do elevado potencial produtivo, o milho apresenta acentuada sensibilidade a estresse de natureza biótica e abiótica que aliada a sua pequena plasticidade foliar, reduzida prolificidade e baixa capacidade de compensação efetiva, seu cultivo necessita ser rigorosamente planejado e criteriosamente manejado, objetivando a manifestação de sua máxima capacidade produtiva.

Para o milho, o potencial de produção é definido precocemente por ocasião da emissão da 4ª folha, podendo se estender até a 6ª folha, principalmente em função da natureza protândrica dos principais genótipos utilizados no Brasil (COSTA, 2004).

O principal fator a causar a diminuição na produção de grãos devido à desfolha artificial, segundo Johnson (1978), foram o reduzido tamanho das espigas e a redução de área foliar, sendo que o último tenha provavelmente diminuído o suprimento fotossintético, resultando em menor peso das espigas.

3.3.3 Estudo dos níveis de dano (ND)

3.3.3.1 Determinação da produtividade estimada em função da densidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda*

Através da equação de regressão $Y = 40,80 - 3,56 X + 0,13 X^2$ (Figura 4D) foi estimada a produtividade de grãos por planta para as diferentes densidades populacionais, no intervalo de 0 a 20 lagartas planta⁻¹, na época de infestação do estágio fenológico V4-V8. Considerando-se a produção estimada de uma planta, pode-se calcular a produção por hectare (65.000 plantas) e comparando-se com a testemunha que é o maior potencial de produção a ser considerado, têm-se o percentual de perdas para cada densidade populacional na época de infestação (Tabela 4).

Tabela 4 - Dados estimados da produção de grãos (g planta⁻¹ e Kg ha⁻¹) e percentuais de perdas na produção de milho, cultivar BG7060, em função das densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda* (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹) no estágio fenológico de V4-V8 folhas. Dados estimados pela equação $y = 40,80 - 3,56x + 0,13x^2$. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Densidades populacionais (x)	Equação	Produção estimada (g) (y)	Produção (Kg/ha)	Perdas na produção (%)
	$Y = 40,80 - 3,56 X + 0,13 X^2$			
0	$Y = 40,80 - 3,56 (0) + 0,13 (0)^2$	40,80	2652,00	-
1	$Y = 40,80 - 3,56 (1) + 0,13 (1)^2$	37,37	2429,05	8,40
3	$Y = 40,80 - 3,56 (3) + 0,13 (3)^2$	31,29	2033,85	23,31
5	$Y = 40,80 - 3,56 (5) + 0,13 (5)^2$	26,25	1706,25	35,66
10	$Y = 40,80 - 3,56 (10) + 0,13 (10)^2$	18,20	1183,00	55,39
15	$Y = 40,80 - 3,56 (15) + 0,13 (15)^2$	16,65	1082,25	59,19
20	$Y = 40,80 - 3,56 (20) + 0,13 (20)^2$	21,60	1404,00	47,06

A redução da produtividade aumentou proporcionalmente ao aumento da densidade de lagartas planta⁻¹, onde em níveis de infestação de 10 e 15 lagartas planta⁻¹ as perdas foram maiores que 50% (Tabela 4). Diferente dos resultados encontrados por Velez; Sifuentes (1967), Carvalho (1970) e Cruz (1999), em condições de campo, os quais detectaram, com 0,5 lagarta planta⁻¹, decréscimos de 37,1; 34,1; 60%, respectivamente, valores estes muito maiores do que os encontrados nesse trabalho quando a infestação por planta foi de 1 lagarta, porém, isso pode ser devido as condições dos experimentos bem como as características das cultivares utilizadas.

De acordo com Fancelli; Dourado-Neto (2000) a distribuição total das folhas expostas, no estágio V8, mediante ocorrência de granizo, geada, ataque severo de pragas e doenças, além de outros agentes, pode acarretar quedas na produção da ordem de 10 a 25%.

3.3.3.2 Determinação dos níveis de dano (ND) e de controle (NC)

Os níveis de dano e de controle são obtidos através da fórmula sugerida por NAKANO (2011), $\%D = 100 \times Ct/V$, determina-se o percentual de dano que é igual ao custo do tratamento e igual ao nível de controle. Conhecido este percentual, estabeleceu-se uma regra de três simples entre o percentual de dano provocado pelas diferentes densidades populacionais de lagartas planta⁻¹ (x) determinadas e o percentual de dano obtido da fórmula anteriormente citada, encontrando-se, desta

maneira, o número de lagartas planta⁻¹ que causam o dano equivalente ao nível de controle.

Cálculo do nível de dano (ND) – estágio fenológico V4-V8

Ct (custo do tratamento) = mão-de-obra + inseticida

Ct = 12,35US\$¹ (FERREIRA FILHO et al., 2010)

Valor da produção (V) =

Produção da testemunha 2652 Kg ha⁻¹ (Tabela 4) / peso do saco de milho 60kg x valor do saco do milho 11,37US\$

V = 2652Kg ha⁻¹ / 60Kg = 44,20 x 11,37US\$ = 502,55US\$ ha⁻¹

%D = 100 x Ct/V

%D = 100 x 12,35 / 502,55

%D = 2,46%

Assim pode-se inferir que 2,46% é o dano igual ao nível de controle para a cultura do milho cv. BG7060 no estágio fenológico V4-V8 com potencial de produzir 2652Kg ha⁻¹.

Empregando-se novamente uma regra de três simples com os percentuais de redução de produtividade em 65.000 plantas (Tabela 4) têm-se:

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 8,40\% \text{ (1 lagarta planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 19.035 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente } 29\% \text{ de plantas atacadas.} \end{array}$$

Portanto, em uma amostragem de 100 plantas, a existência de 29 plantas de milho cv. BG7060 danificadas no estágio fenológico de V4-V8, justifica o controle.

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 23,31\% \text{ (3 lagartas planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 6.859,72 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente } 11\% \text{ de plantas atacadas.} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 35,66\% \text{ (5 lagartas planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 4.484,01 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente } 7\% \text{ de plantas atacadas.} \end{array}$$

¹ Cotação do dólar em 26/12/2014 = 2,65 (Banco Central do Brasil)

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 55,39\% \text{ (10 lagartas planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 2.886,80 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente 5\% de plantas atacadas.} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 59,19\% \text{ (15 lagartas planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 2.701,47 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente 4\% de plantas atacadas.} \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 65.000 \text{ ----- } 47,06\% \text{ (20 lagartas planta}^{-1}\text{)} \\ x \text{ ----- } 2,46 \\ x = 3397,79 \text{ plantas ha}^{-1} \text{ ou aproximadamente 5\% de plantas atacadas.} \end{array}$$

A tabela 5 foi construída baseada na fórmula acima, e relaciona o número de lagartas planta⁻¹ em função do estágio de desenvolvimento da planta. A última coluna indica o nível de controle, em uma amostragem de 100 plantas, ou seja, o máximo de plantas danificadas que justifique o controle.

Tabela 5 - Nível de controle de *Spodoptera frugiperda* em milho, cultivar BG7060, submetido a infestações artificiais do inseto-praga (0, 1, 3, 5, 10, 15 e 20 lagartas planta⁻¹) no estágio fenológico de V4-V8 folhas. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Nível populacional de <i>S. frugiperda</i>	Plantas danificadas (%)	Nível de controle (amostra de 100 plantas)
1	29	29
3	11	11
5	7	7
10	5	5
15	4	4
20	5	5

Portanto, o nível de controle varia de acordo com a densidade populacional da lagarta-do-cartucho do milho e estágio fenológico da cultura. Desta maneira, à medida que a densidade populacional do inseto-praga aumentou, o nível de controle diminuiu. Isto demonstra que em lavouras que possuem infestações de *S. frugiperda*, em razão do nível de controle ser baixo, ações de controle devem ser tomadas, porque ocorrerá reduções significativas na produtividade de grãos.

3.4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, podem ser estabelecidas as seguintes conclusões para o estágio fenológico de V4-V8 (17 DAE a 46 DAE):

A produção de grãos da cultivar precoce de milho BG7060 é reduzida em 8,40% com uma lagarta de *S. frugiperda* por planta;

O nível de controle de *S. frugiperda* para o milho BG7060 é 29% de plantas atacadas em uma amostragem de 100 plantas, quando ocorre uma lagarta planta⁻¹, para um custo de tratamento de US\$ 12,35 e o valor da produção em torno de US\$ 502,55 por hectare;

O aumento do número de lagartas de *S. frugiperda* por planta para o milho BG7060 afeta todas as variáveis relacionadas à produtividade, exceto a altura de planta e comprimento da espiga;

A equação $Y = 40,80 - 3,56x + 0,13x^2$ demonstra que os níveis de infestação de lagartas de *S. frugiperda* afetam a produção de grãos por planta, propiciando uma menor produtividade conforme ocorre aumento no número de lagartas planta⁻¹, até a infestação de 15 lagartas planta⁻¹ após ocorre um pequeno acréscimo na produção de grãos.

4 Capítulo II – Avaliação do refúgio no saco para milho transgênico em terras baixas

4.1 Introdução

Com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma estratégia de controle de pragas, que consiste na utilização das plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos (CAROZZI; KOZIEL, 1997). Assim, a safra de grãos de 2008/2009 é considerada um marco na produção de milho no Brasil, uma vez que foi autorizada, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a comercialização de sementes de milho geneticamente modificado que expressam gene(s) que codificam proteínas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) (MENDES et al., 2008; OMOTO, 2013).

Dessa maneira, pela primeira vez, os agricultores brasileiros puderam usufruir desta tecnologia, que visa auxiliar o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na cultura do milho, cuja principal espécie-praga é a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), mostrando-se uma alternativa para locais onde a pressão de lagartas é alta (ARAÚJO et al., 2011; MENDES et al., 2008).

A adoção de plantas transgênicas tem sido crescente no Brasil. Considerando a área total de milho, a adoção de biotecnologia para o cereal foi de aproximadamente 81,5%, ou seja, 12,5 milhões de hectares, um acréscimo de 0,9% da safra anterior. Em relação à 2008/2009, o primeiro ano de adoção do milho geneticamente modificado, o aumento foi consideráveis 11,38 milhões de hectares (CÉLERES, 2014).

Esse rápido crescimento na área semeada com milho transgênico resistente a insetos faz com que pesquisas e trabalhos nessa área se tornem cada vez mais importantes e essenciais para o contínuo avanço de produtividade da cultura, visto que, com o aumento das áreas cultivadas e o uso indiscriminado de inseticidas químicos ao longo dos anos, a resistência de insetos tem sido identificada como uma séria ameaça ao desenvolvimento e manutenção dessa tecnologia e conseqüentemente a produção e manutenção de práticas de MIP (LEMESLE; MAILLERET; VAISSAYRE, 2010).

Nesse contexto, a melhor maneira de preservar os benefícios das plantas transgênicas é a implementação de áreas de refúgio (MARTINELLI; OMOTO, 2005). Essa tecnologia preconiza a semeadura de área com híbrido *Bt*, com plantas da mesma espécie, porém não transgênicas, de igual porte e ciclo (WAQUIL; BOREGAS; MENDES, 2008). O principal objetivo do refúgio é sincronizar os cruzamentos de possíveis adultos sobreviventes à proteína inseticida com insetos ainda suscetíveis provenientes da área de refúgio, num esforço de preservar na descendência dos cruzamentos a suscetibilidade à proteína transgênica, com conseqüente manutenção dos benefícios da tecnologia *Bt* (BOURGUET; DESQUILBET; LEMARIE, 2005; MACHADO; FIUZA, 2011).

Cabe ressaltar que o percentual da lavoura que deve ser plantado como área de refúgio depende do evento transgênico utilizado e devem ser obedecidas as regras da empresa registrante de cada evento. Estão disponíveis no mercado hoje materiais que expressam uma proteína (*Cry1Ab*, *Cry1F*, *Vip3A*), para as quais a recomendação da área de refúgio é de pelo menos 10%, e materiais com duas proteínas *Bt* em uma mesma planta (*Cry1A.105/ Cry2Ab2*, *Cry1Ab/VIP3Aa20*, *Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F*, *Cry1Ab/Cry1F*) para as quais a área destinada para o refúgio se reduz para 5% (LEITE et al., 2011; ZANCANARO, 2012).

Mesmo com a contínua conscientização feita por empresas, universidades e instituições de pesquisa, há evidências de que a quantidade de agricultores que de fato cumprem as normas de plantio de refúgio está diminuindo ao longo dos anos e, uma das causas para este processo, é a de que o plantio dessas áreas onera os custos de produção, bem como o planejamento do plantio como um todo. Entretanto, a maioria estaria disposta a utilizar novas tecnologias de refúgio que facilitassem o planejamento e o plantio das áreas (GRAY, 2010; WEISE, 2009).

Na tentativa de solucionar e facilitar o cumprimento das normas técnicas de implantação de refúgios, as principais empresas multinacionais produtoras de sementes de milho têm proposto uma nova tecnologia, denominada de Refúgio no Saco ("Refuge In the Bag" - RIB). Essa tecnologia propõe que sejam feitas misturas de porcentagens de sementes não transgênicas diretamente nos sacos com as sementes transgênicas. Comparado ao uso do refúgio estruturado, o RIB é uma alternativa interessante e deve ser considerada para substituir o método tradicional (SILVEIRA, 2010).

Entre as vantagens dessa nova tecnologia, destacam-se: manejo simplificado do refúgio; uso de apenas um saco de sementes; menos trabalho na organização da semeadura; certeza do cumprimento das normas de refúgio; redução na pressão de seleção de indivíduos resistentes a inseticida químico; melhor distribuição das plantas não *Bt* ao longo da área cultivada, o que aumenta a probabilidade de os indivíduos suscetíveis cruzarem com os que tenham desenvolvido resistência (ZANCANARO et al., 2012).

Diante do que foi exposto, este trabalho objetivou fornecer subsídios para preservação da tecnologia *Bt* através da avaliação da proporção de sementes de milho convencional misturadas ao milho transgênico cultivadas em terras baixas.

4.2 Material e métodos

O experimento foi conduzido a campo em sistema de preparo convencional, na Estação Experimental de Terras Baixas (ETB) da Embrapa Clima Temperado (CPACT), no município de Capão do Leão, RS (31°49,07'07.09"S 52°28'02.98"O e altitude de 15m), no ano agrícola de 2013/14. O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, em faixas, com cinco repetições. Os tratamentos testados constaram de dois híbridos expressando as proteínas *Cry1F* e *Cry1A.105/Cry2Ab2*, seus respectivos isogênicos não-*Bt* e mistura dos mesmos híbridos em diferentes proporções (Tabela 6).

Tabela 6 - Tratamento e respectiva proporção de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho utilizados nos tratamentos, Capão do Leão, RS, 2013/14.

Tratamento	Proteína/Proporção
BG 7060H	<i>Cry1F</i> (100%)
BG 7060H + BG7060	<i>Cry1F</i> (90%) + Convencional (10%)
BG 7060	Convencional (100%)
AG 9045 PRO2	<i>Cry1A.105/Cry2Ab2</i> (100%)
AG 9045 PRO2 + AG 9045	<i>Cry1A.105/Cry2Ab2</i> (95%) + Convencional (5%)
AG 9045	Convencional (100%)

A escolha dos tratamentos consistiu em híbridos que expressassem uma e duas proteínas, uma vez que a área de refúgio recomendada para ambas varia. Para híbridos com uma proteína a área de refúgio recomendada é 10% e para híbridos com duas proteínas 5% (LEITE et al., 2011; ZANCANARO, 2012).

O solo da área é classificado como Planossolo Hidromórfico eutrófico solódico, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2006). A

adubação foi realizada de acordo com a análise de solo, sendo utilizados 400 kg ha^{-1} da formulação 10-20-20 na semeadura e 180 kg ha^{-1} de nitrogênio 30 dias após o plantio. Os demais manejos e tratos culturais foram realizados seguindo-se as recomendações técnicas da cultura (REUNIÃO, 2013).

A semeadura foi realizada mecanicamente com espaçamento entre linhas de 50 cm. Após a emergência das plantas foi realizado desbaste deixando três plantas por metro linear, proporcionando o estabelecimento de população aproximada de 65.000 plantas por hectare. A unidade experimental consistiu de faixas com 50 metros de comprimento e quatro metros de largura, totalizando oito linhas de plantas. Já a unidade de observação consistiu de cinco pontos com quatro metros quadrados dentro de cada faixa. Durante a condução do experimento, sempre que atingido o nível de dano (10% de plantas atacadas por *S. frugiperda*) foi realizado controle das lagartas e de plantas daninhas (Tabela 7), com inseticidas e herbicidas, respectivamente, registrados para cultura do milho (MAPA, 2014a).

Tabela 7 - Data de aplicação, tratamento, grupo químico, ingrediente ativo, formulação comercial, modo de ação e dose dos produtos aplicados para o controle de plantas daninhas e *Spodoptera frugiperda* durante a condução do experimento de mistura de sementes a campo. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Data da aplicação	Tratamento	Grupo Químico /Ingrediente ativo	Formulação comercial	Modo de ação/dose
Antes da semeadura	Toda área	Acetanilidas/S-metolaclo-ro	Dual	Herbicida seletivo de pré emergência do grupo químico Cloroacetanilida ($1,6\text{L p.c. ha}^{-1}$)
18/01/2014	Todos	Diamida do ácido ftálico/flubendiamida	Belt	Inseticida com ação de contato e ingestão ($100\text{mL p.c. ha}^{-1}$)
01/02/2014	Tratamento 3 e 6	Benzoiluréia/triflumurom	Certero	Inseticida regulador de crescimento, inibidor da síntese de quitina, pertencente ao grupo benzoiluréia (60mL p.c. ha^{-1}).
15/02/2014	Todos	Espinosinas/espinosade	Tracer	Inseticida não sistêmico de origem biológica do grupo químico das espinosinas (50mL p.c. ha^{-1})

Fonte: MAPA (2014a).

Quando as plantas encontravam-se com oito folhas desenvolvidas foi realizado nos tratamentos com mistura de sementes o Teste Tiras QuickStix, desenvolvido para detectar a presença de proteínas *Bt*, a fim de identificar a posição das plantas *Bt* e convencionais dentro das áreas demarcadas e verificar o

comportamento dos danos ocasionados nas mesmas.

Foi utilizado o Kit EnviroLogix QuickStix para detecção da proteína *Cry1F* e *Cry2A*. O teste consiste primeiramente na preparação das amostras, para isso coletaram-se duas seções circulares de tecido foliar do tamanho da tampa do tubo (A). Com auxílio de um pistilo macerou-se o tecido durante 30 segundos (B). Adicionou-se 10 gotas do tampão de extração (C), repetindo-se o processo de maceração para homogeneizar o tecido foliar com o tampão de extração (D). Colocou-se uma tira QuickStix no tubo de coleta e aguardou-se 5 minutos para iniciar a interpretação do resultado (E). A tira consiste de uma linha controle e uma linha teste, quando a segunda linha foi detectada, considerava-se uma planta *Bt* (F) (Figura 5).



Figura 5 – Procedimentos para diagnosticar a presença ou ausência das proteínas *Cry1F* e *Cry2A* nas folhas de milho das cultivares BG7060 H e AG9045 PRO2, respectivamente. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Créditos: Leticia Hellwig.

Semanalmente foram realizadas avaliações, através de visualização dentro das áreas demarcadas, do percentual de plantas atacadas e da população de lagartas de *S. frugiperda* (Anexos A e B).

Dez dias anteriores à colheita procedeu-se a medição da altura da planta e da inserção da espiga, com régua graduada, expressando os valores em centímetros. Adotou-se como critério, para altura das plantas, a distância entre o nível do colo da planta e o colar da última folha adulta, e para inserção da espiga, a distância entre o nível do colo da planta e a base da espiga superior.

A colheita foi realizada quando os grãos atingiram a maturação fisiológica (VIÉGAS; PEETEN, 1987). Aos 156 dias após a semeadura foram colhidas manualmente as espigas de cada ponto, sendo em seguida acondicionadas em sacos devidamente identificados.

Após o despalhamento manual, foi efetuada a contagem do número de fileiras de grãos por espiga, número de grãos por fileira, número de grãos por espiga através da contagem direta nas espigas; a medição do comprimento, e diâmetro, mediante o emprego de uma escala graduada em centímetros e de um paquímetro, respectivamente. Em seguida as espigas foram debulhadas manualmente e o diâmetro do sabugo foi medido com um paquímetro e o peso de 1000 grãos, em balança de precisão.

A produtividade foi avaliada colhendo-se manualmente cinco pontos de sete metros quadrados de plantas dentro de cada faixa. Após a colheita, foi realizada a trilha, limpeza e secagem dos grãos para 13% de umidade.

Para a análise estatística os valores atípicos (*outliers*) foram identificados com a plotagem dos resíduos estudentizados externamente (*RStudent*) versus valores preditos (variável Y). A partir do *RStudent*, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados (BARNETT; LEWIS, 1994; ROUSSEUW; LEROY, 1987). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; a homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F (p 0,05). Constatando-se significância estatística, os tratamentos foram agrupados de acordo com as proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de híbridos de milho e comparados por meio de contrastes ortogonais, a 5% de probabilidade (Tabela 8).

Tabela 8 - Coeficientes dos contrastes ortogonais testados para diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Tratamento	Contrastes				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
1. BG7060 H (100%)	+				
2. BG7060 H (90%) + BG 7060 (10%)	-	+			
3. AG9045 PRO2 (100%)			+		
4. AG9045 PRO2 (95%) + AG 9045 (5%)			-	+	
5. BG7060 (100%)		-			+
6. AG9045 (100%)				-	-

Para a variável produtividade os níveis do fator de tratamento foram avaliados pelo teste de Duncan ($p < 0,05$) (SAS INSTITUTE, 2002).

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Avaliações visuais

Em todos os tratamentos foi visualizada a presença de lagartas de *S. frugiperda*, tanto nas plantas transgênicas como nas não transgênicas. No entanto, lagartas grandes (> 1,5cm) não foram observadas nas plantas transgênicas, o que pode ter sido decorrente da mortalidade ou do atraso no desenvolvimento em razão da ingestão das toxinas *Bt* (BOKONON-GANTA et al., 2003). Resultados semelhantes foram observados por Waquil et al. (2014) que também não encontraram lagartas grandes em plantas *Bt*. Outro aspecto importante que deve ser considerado é que, a avaliação da intensidade de danos nos isogênicos *Bt* e não-*Bt*, indicou danos mais severos no isogênico não *Bt* (Anexos A e B).

Na primeira avaliação realizada, foi observado, de um modo geral, que os dois tratamentos convencionais, BG7060 e AG9045, foram os que apresentaram o maior número de lagartas presentes, 21,5 e 17, respectivamente e, conseqüentemente a maior porcentagem de plantas atacadas 90% e 87%, respectivamente (Figuras 6A e B). A chance de sobrevivência e multiplicação da lagarta-do-cartucho em milho convencional é muito alta, uma vez que ela não ingere a toxina ao se alimentar das plantas, portanto, a praga pode completar várias gerações durante o ciclo da cultura (ZANCANARO, 2012).

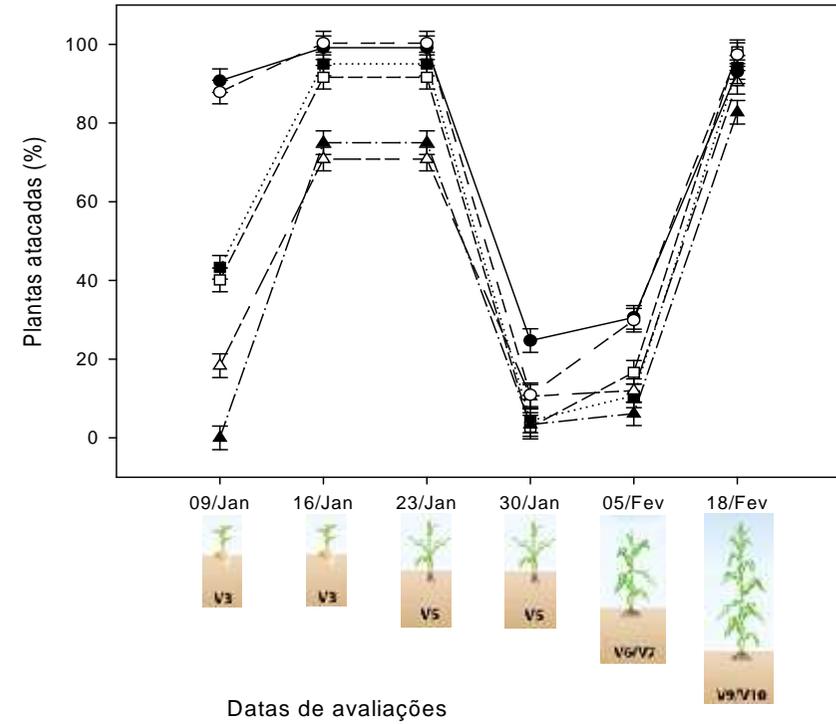
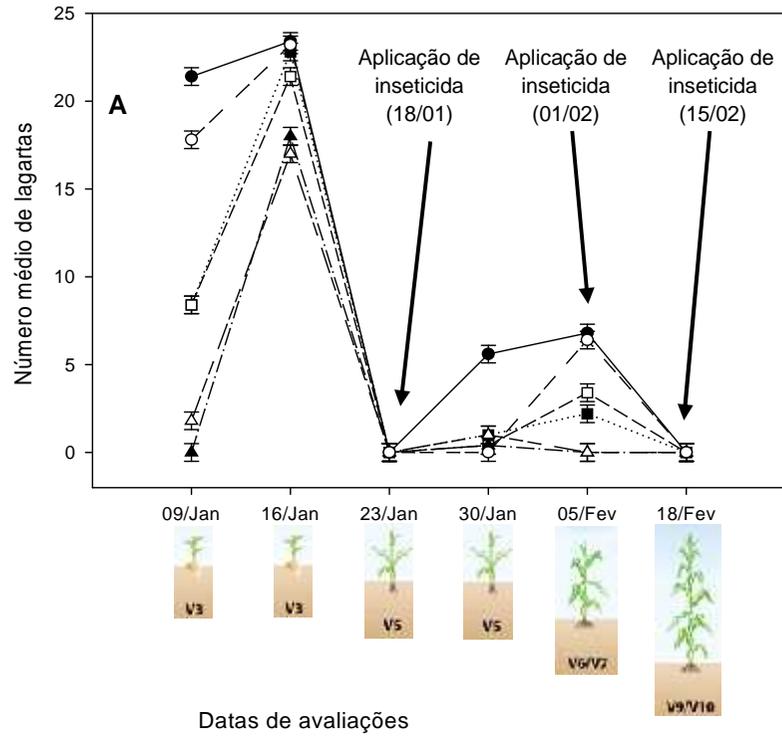


Figura 6 – Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (A) e percentual de plantas atacadas (B) em função de diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Já para o tratamento 100% transgênico, BG7060H, e sua mistura BG7060H (90%) + BG7060 (10%), esses índices foram menores, com um número médio de 8,4 lagartas por área demarcada para ambos os tratamentos e em torno de 40% dessas plantas atacadas, ataque esse muito menor quando comparado aos tratamentos convencionais. Logo, os dois tratamentos do híbrido AG9045, o 100% transgênico e a mistura de sementes AG9045PRO2 (5%) + AG9045 (5%), foram os que apresentaram os menores índices comparados a todos os outros tratamentos, em torno de 1,7 lagartas por área demarcada e conseqüentemente 13,7% de plantas atacadas para o tratamento de mistura de sementes e, para o tratamento 100% transgênico esses valores foram nulos, ou seja, mesmo 18 dias após o plantio (DAP) do milho os mesmos não apresentavam nenhum sintoma de ataque, porém para o tratamento com misturas de sementes a produtividade foi menor (Figura 6A e B).

Obviamente os danos nesses tratamentos são muito menores devido à presença de proteínas *Bt*, com ação inseticida nas plantas. Ressaltando que, quando se utiliza mistura de sementes, somente as lagartas que acertarem ao acaso as plantas não transgênicas sobreviverão, uma vez que não há evidências de que as mesmas conseguem distinguir as folhas de milho *Bt* e não *Bt*, tendo como base os compostos voláteis das plantas, porém apresentam não-preferência para alimentação em milho *Bt* quando submetidas ao contato físico com o hospedeiro (COSTA et al., 2009; MENDES et al., 2011).

Após a primeira avaliação o número médio de lagartas continuou a aumentar em todos os tratamentos, assim na segunda avaliação, 25 DAP, houve um pico de lagartas presentes nas plantas, chegando a quase 100% de plantas atacadas para quase todos os tratamentos, exceto para o AG9045 PRO2 e a sua mistura com seu respectivo isogênico não-*Bt* que se mantiveram com valores menores, em torno de 70% de ataque (Figura 6A e B), no entanto, muito acima do ND (10% de plantas atacadas). Esse comportamento se deve ao fato do híbrido AG9045 PRO2 apresentar duas proteínas no mesmo material e com isso pode ocorrer o que muitas vezes é mencionada como “morte redundante”, isso porque os insetos adaptados a uma proteína morrem devido à segunda proteína e um inseto totalmente susceptível “morre duas vezes”. Dessa forma, a evolução da resistência pode ser retardada, quando não há resistência cruzada entre as proteínas expressas na planta transgênica (GOULD, 1998; ZHAO et al., 2003, 2005).

Aos 27 DAP foi necessário intervir com uma aplicação de inseticida flubendiamida (100mL p.c. ha⁻¹) do grupo químico das diamidas do ácido ftálico, reduzindo o número médio de lagartas para zero em todos os tratamentos. No entanto, nos dois tratamentos convencionais o número médio de lagartas novamente aumentou, sendo necessária mais uma aplicação de inseticida, 14 dias após a primeira aplicação, sendo utilizado triflumurom (60mL p.c. ha⁻¹) do grupo químico das benzoiluréias, em ambos os tratamentos. Uma semana após a aplicação o número médio de lagartas continuou a aumentar em todos os tratamentos, sendo novamente necessária mais uma intervenção com inseticida em todos os tratamentos (55 DAP), espinosade (50mL p.c. ha⁻¹) do grupo químico das espinosinas. Assim, nos tratamentos com o milho não-*Bt*, foram realizadas três pulverizações visando o controle da lagarta-do-cartucho e nas áreas com plantas *Bt* foram realizadas duas aplicações.

Apesar do comportamento de ambos os híbridos ter sido semelhante ao longo das avaliações, o híbrido BG7060, independente de possuir proteína *Bt*, foi o que apresentou sempre o maior número médio de lagartas e a maior porcentagem de plantas atacadas quando comparado ao híbrido AG9045 (Figura 6A e B). Isso pode ser devido ao fato da lagarta já apresentar resistência à proteína presente no híbrido (*Cry1F*) e, além disso, o tratamento da mistura tem uma porcentagem maior de plantas convencionais (10%). O mesmo foi observado por Zancanaro (2012), onde o tratamento com mistura de 10% foi mais atacado do que todos os outros tratamentos, com exceção apenas do tratamento com milho não transgênico. Este fato confirma o fato de que, se fosse utilizada uma proporção de 10% de mistura de sementes não transgênicas poderia ocasionar em uma maior perda para os agricultores (SILVEIRA, 2010).

Embora o milho BG7060H forneça controle próximo a 100%, o mesmo não atende plenamente aos requisitos de evento de alta dose para *S. frugiperda*, devido aos problemas de resistência já relatados para essa espécie (MATTEN; HEAD; QUEMADA, 2008). Adicionalmente, a constatação de evolução de resistência de *S. frugiperda* à proteína *Cry1F* após quatro anos de liberação do milho *Bt* em Porto Rico (STORER et al., 2010), é preocupante, pois no Brasil, recentemente, esse evento foi liberado comercialmente para cultivo. Diante disso, é necessário que as estratégias de manejo de resistência estejam bem-estabelecidas e devem ser empregadas em âmbito nacional, dentro de um programa pró-ativo de manejo de

resistência e, assim, salvaguardar a vida útil dessas tecnologias para o MIP (BERNARDI et al., 2011).

4.3.2 Avaliações dos parâmetros da produção e produtividade (Kg ha⁻¹)

As variáveis altura de planta ($F = 1,79$; $p = 0,153$; $CV = 7,5\%$), altura de inserção de espiga ($F = 1,38$; $p = 0,265$; $CV = 18,7\%$) e comprimento da espiga ($F = 2,11$; $p = 0,10$; $CV = 12,9\%$) não apresentaram diferenças significativas (Tabela 9).

Comparando-se o tratamento 100% BG7060 H com a sua mistura BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) houve diferença significativa para as seguintes variáveis: número de grãos por fileira e grãos por espiga, diâmetro da espiga (cm) e do sabugo (cm). Para todas as variáveis foram observados valores maiores para o tratamento com mistura de sementes. Já na comparação da mistura BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) com BG7060 100% convencional houve diferença significativa para a variável grãos por espiga e peso de mil grãos (g). Em ambas as variáveis também foram observados maiores valores no tratamento com mistura de sementes (Tabela 9).

Quando se comparou o tratamento 100% transgênico, AG9045 PRO2, com a sua mistura AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%) observou-se diferença significativa para a variável peso de mil grãos (g). O maior valor observado foi para o tratamento 100% *Bt*, onde o peso de mil grãos foi de 327g. O mesmo ocorreu quando se comparou a mesma mistura com o 100% convencional, AG9045, (peso de mil grãos de 325,60g), onde a mistura também obteve valor menor (Tabela 9).

Na comparação entre os híbridos convencionais, BG7060 e AG9045, observou-se diferença significativa para as variáveis: fileira de grãos, diâmetro do sabugo (cm) e peso de mil grãos (g). Nesse caso foi possível verificar que o híbrido BG7060 apresentou maiores valores para número de fileira de grãos (13,50g) e diâmetro do sabugo (2,74cm), no entanto, apresentou menor peso de mil grãos, 286,80g enquanto a mistura de sementes do híbrido AG9045 obteve um peso de 325,60g (Tabela 9).

Tabela 9 - Médias das variáveis relacionadas à produtividade, em função de diferentes proporções de sementes em mistura (transgênicas e não transgênicas) de duas cultivares de milho, BG7060 e AG9045, e significância dos contrastes ortogonais testados em relação aos danos causados por *Spodoptera frugiperda*. Capão do Leão, RS, 2013/14.

Variável dependente	Contraste ortogonal				
	C ₁ 1 vs. 2 ^{2/}	C ₂ 2 vs. 5	C ₃ 3 vs. 4	C ₄ 4 vs. 6	C ₅ 5 vs. 6
Altura de plantas (cm) ^{NS}	177,10±19,03 ^{1/}	188,28±12,07	175,00±12,90	168,23±7,14	181,75±15,30
	188,28±12,07	181,75±15,30	168,23±7,14	167,75±9,62	167,75±9,62
Altura da inserção da espiga (cm) ^{NS}	77,60±14,65	69,20±17,01	63,50±11,71	62,00±10,70	72,75±11,09
	69,20±17,01	72,75±11,09	62,00±10,70	61,00±8,94	61,00±8,94
Fileira de grãos	13,27±0,97 ^{ns}	13,94±0,64 ^{ns}	12,44±0,39 ^{ns}	12,62±0,28 ^{ns}	13,50±0,28*
	13,94±0,64	13,50±0,28	12,62±0,28	12,39±0,32	12,39±0,32
Grãos fileira ⁻¹	20,52±7,87*	26,59±5,83 ^{ns}	28,02±4,86 ^{ns}	25,06±4,52 ^{ns}	22,63±3,62 ^{ns}
	26,59±5,83	22,63±3,62	25,06±4,52	25,44±2,17	25,44±2,17
Grãos espiga ⁻¹	285,56±90,06*	399,22±82,64*	375,69±33,93 ^{ns}	315,38±55,71 ^{ns}	308,21±54,66 ^{ns}
	399,22±82,64	308,21±54,66	315,38±55,71	318,66±27,51	318,66±27,51
Diâmetro espiga (cm)	4,23±0,43*	4,60±0,22 ^{ns}	4,23±0,12 ^{ns}	4,14±0,14 ^{ns}	4,42±0,12 ^{ns}
	4,60±0,22	4,42±0,12	4,14±0,14	4,23±0,10	4,23±0,10
Diâmetro sabugo (cm)	2,51±0,17*	2,81±0,08 ^{ns}	2,56±0,09 ^{ns}	2,54±0,05 ^{ns}	2,74±0,07*
	2,81±0,08	2,74±0,07	2,54±0,05	2,54±0,05	2,54±0,05
Comprimento espiga (cm) ^{NS}	12,48±2,63	13,88±1,56	15,39±2,31	14,03±1,48	12,36±1,14
	13,88±1,56	12,36±1,14	14,03±1,48	14,31±0,77	14,31±0,77
Peso de mil grãos (g)	304,80±16,83 ^{ns}	317,33±11,01*	327,00±19,08*	300,00±25,34*	286,80±6,72*
	317,33±11,01	286,80±6,72	300,00±25,34	325,60±5,55	325,60±5,55

^{*,ns} Contrastes significativos e não-significativos, respectivamente, a 5% de probabilidade. ^{1/} Média de cinco determinações ± desvio padrão. ^{2/} 1. BG7060 H (100%); 2. BG7060 H (90%) + BG7060 (10%); 3. AG9045 PRO2 (100%); 4. AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%); 5. BG7060 (100%); 6. AG9045 (100%). ^{NS}: não significativo pelo teste F (p 0,05).

De um modo geral a produtividade do híbrido AG9045 foi maior em comparação com o híbrido BG7060. Os dois tratamentos que apresentaram a menor produção foram a mistura AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%) e o 100% convencional BG7060 (Figura 7), entretanto, cabe ressaltar que foi necessária uma aplicação a mais de inseticida nos tratamentos convencionais.

Para o híbrido com uma proteína, BG7060, a maior média obtida foi a do tratamento de mistura de sementes *Bt* e convencionais (3.370,72Kg ha⁻¹), produzindo cerca de 7,47 e 18,67% a mais quando comparado com BG7060H (3.118,99Kg ha⁻¹) e BG7060 (2.741,73Kg ha⁻¹), respectivamente. Para o híbrido de segunda geração a maior média obtida foi a do tratamento 100% transgênico (AG9045 PRO2) com 4.022,90 Kg ha⁻¹, produzindo cerca de 8,42% a mais que o tratamento convencional (3.684,05Kg ha⁻¹) e 36,79% a mais quando comparado com a mistura de sementes *Bt* e convencional (2.543,22Kg ha⁻¹).

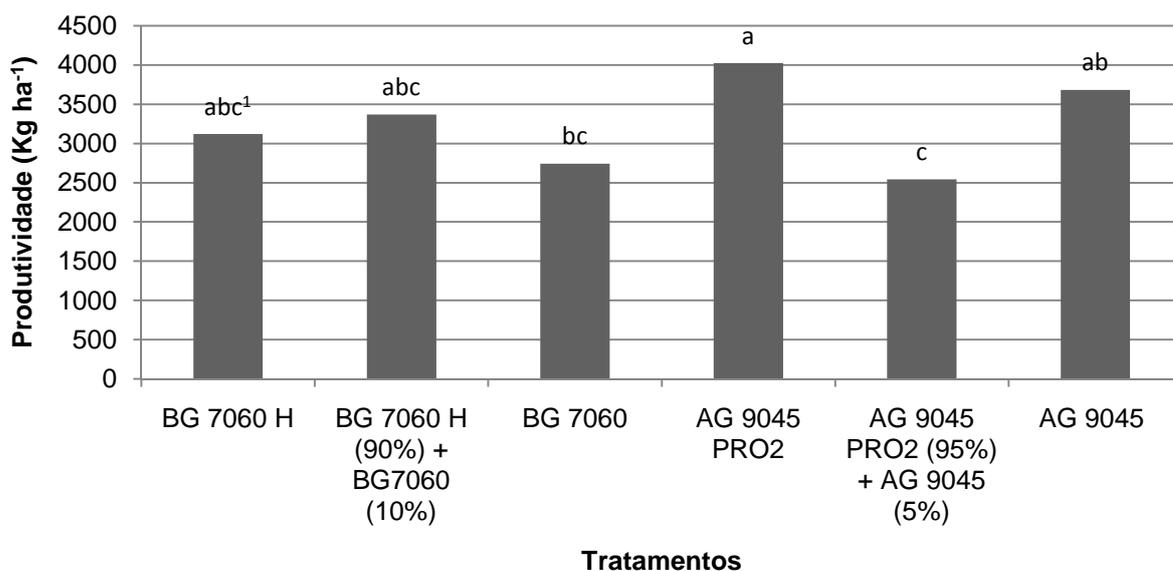


Figura 7 - Produtividade média (kg ha⁻¹) das cultivares de milho BG7060 H e AG9045 PRO2, nos tratamentos com as porcentagens de mistura de sementes não transgênicas com transgênicas (Mistura de 10% e 5% para BG7060 e AG9045, respectivamente), totalmente transgênico e totalmente convencional em relação aos danos causados por *Spodoptera frugiperda*. Capão do Leão, RS, 2013/14. ¹Média de cinco determinações ± desvio padrão. Médias seguidas por mesma letra não diferiram entre si pelo teste de Duncan (p < 0,05).

As plantas *Bt* “piramidadas”, como o AG9045 PRO2, retardam a evolução da resistência mais eficientemente que plantas que expressam uma única proteína inseticida (BG7060 H), principalmente devido à baixa frequência inicial dos indivíduos resistentes às múltiplas toxinas (FERRÉ; VAN RIE, 2002). O uso de

plantas “piramidadas” apresenta ainda, como vantagem controlar mais eficientemente todo o complexo de lagartas em culturas que apresentam pragas múltiplas, pois espécies que são pouco suscetíveis a uma das proteínas podem ser mais suscetíveis a outra proteína expressa na planta *Bt*. Adicionalmente, permitem a redução no tamanho das áreas de refúgio, visto que estudos de modelagem têm demonstrado que 5 a 10% de área de refúgio com plantas expressando duas proteínas *Bt* podem proporcionar a diluição de resistência equivalente a 30 a 40% de área de refúgio quando duas plantas transgênicas com uma única proteína são implantadas seqüencialmente (BATES et al., 2005; ZANCANARO, 2012).

4.4 Conclusões

A mistura de sementes na proporção de BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) apresentou produção maior que o BG7060 H e seu respectivo isogênico não-*Bt*, porém sem diferenças significativas entre os tratamentos;

A mistura de sementes na proporção de AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%), nas condições do experimento, produziu menos do que o AG9045 PRO2 e seu respectivo isogênico isolado com diferenças significativas entre os tratamentos;

O híbrido AG9045 (transgênico e convencional) apresentou menor número médio de lagartas e menor porcentagem de plantas atacadas quando comparado ao híbrido BG7060 (transgênico e convencional);

A mistura de sementes diminui a aplicações de inseticidas quando comparado aos tratamentos convencionais;

A intensidade de danos, de maneira geral, diminui com a redução na proporção de sementes não transgênicas usadas na tecnologia “Refuge in the Bag – RIB”, refletindo em diferenças na produtividade, para as condições do experimento;

5 Considerações finais

De acordo com os resultados obtidos nas condições de infestações artificiais em função das densidades populacionais de *S. frugiperda* em diferentes estádios fenológicos da cultivar de milho BG7060, pode-se concluir que plantas recém emergidas não toleram infestações da lagarta-do-cartucho, nem mesmo quando presente somente uma lagarta planta⁻¹ e que os danos ocasionados nas folhas aumentam conforme aumenta a densidade populacional das lagartas. Além disso, a produtividade é reduzida com o aumento do número de lagartas planta⁻¹, onde uma lagarta planta⁻¹ reduziu 8,4% a produção de grãos e, em níveis de infestações de 10 e 15 lagartas planta⁻¹ as perdas foram maiores que 50%, no estádio fenológico V4-V8. Assim, à medida que aumenta a densidade populacional das lagartas diminuiu o nível de controle de *S. frugiperda* para o milho BG7060, onde em uma amostragem de 100 plantas o nível de controle é quando se observa 29% de plantas atacadas com uma lagarta, para um custo de tratamento de US\$ 12,35 e o valor da produção em torno de US\$ 502,55 por hectare.

No que se refere à mistura de sementes no saco, pode-se concluir que ambas as mistura testadas, BG7060 H (90%) + BG7060 (10%) e AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%), podem ser usadas na substituição do refúgio estruturado. Sendo assim, a tecnologia de Refúgio no Saco proporcionaria um menor uso de inseticidas químicos na lavoura, diminui a pressão de seleção a favor do aparecimento de insetos-alvo resistentes, e conseqüentemente, diminui o risco de contaminação ambiental. Além disso, é uma alternativa que deve ser considerada para substituir o método de refúgio convencional utilizado atualmente, na tentativa de retardar a evolução da resistência de *S. frugiperda* ao *Bt*.

Referências

- AFONSO-ROSA, A. P. S.; BARCELOS, H. T. Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho. **Pelotas, EMBRAPA CLIMA TEMPERADO**, 2012. p. 9-10. (Documentos, 344).
- AFONSO-ROSA, A. P. S.; MARTINS, J. F. S.; TRECHA, C. O. Avaliação de danos da lagarta-do-cartucho à cultura do milho com base no monitoramento de plantas atacadas em três safras agrícolas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 17, p. 1-16, 2011.
- ANDOW, D. A. The risk resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. **Collection of Biosafety Reviews**, Trieste, v. 4, p. 142-199, 2008.
- ANDRADE, F. H. Analysis of growth and yield of maize, sunflower and soybean grown at Balcarce, Argentina. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 41, p. 1-12, 1995.
- ARAÚJO, D. S.; GALVÃO, J. D.; FONTES, L. A. N. Efeito de épocas-níveis de desfolha do milho sobre a produtividade do consórcio milho feijão. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 35, n. 198, p. 130-144, 1988.
- ARAÚJO, L. F.; DA SILVA, A. G.; CRUZ, I.; CARMO, E. L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M. M. P.; RATTES, J. F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico *Bt*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 205-214, 2011.
- ARMSTRONG, C.L.; PARKER, G.B.; PERSHING, J.C.; BROWN, S.M.; SANDERS, P.R.; DUNCAN, D.R.; STONE, T.; DEAN, D.A.; DEBOER, D.L.; HART, J.; PETERSEN, W.L.; REICH, B.J.; RODRIGUEZ, R.; SANTINO, C.G.; SATO, S.J.; SCHULER, W.; SIMS, S.R.; STEHLING, S.; TAROCHIONE, L.J.; FROMM, M.E. Field evaluation of European corn borer control in progeny of 173 transgenic corn events expressing an insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 550-557, 1995.
- ÁVILA, C. J.; DEGRANDE, P. E.; GOMEZ, A. S. Insetos pragas: reconhecimento, comportamento, danos e controle. In: Milho: informações técnicas. Dourados, **EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE**, 1997. p. 157-170. (Circular Técnica, 5).

BAGATINI, N. Manejo Integrado de Pragas da cultura do milho. **NIDERA NEWS**, 5p, 2012. Disponível em:
http://www.niderasementos.com.br/upload/documentos/manejo_integrado_262109104026972.pdf. Acesso em: 13 de janeiro de 2015.

BALBINOT JR., A. A.; BIALESKI, M.; BACKES, R. L. Épocas de manejo de plantas de cobertura do solo de inverno e incidência de plantas daninhas na cultura do milho. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 3, p. 91-94, 2005.

BARNETT, V.; LEWIS, T. **Outliers in Statistical Data**, 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York, 1994.

BATES, S. L.; ZHAO, J. Z.; ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M. Insect resistance management in GM crops: past, present and future. **Nature Biotechnology**, New York, v, 23, p. 57-62, 2005.

BERNARDI, O. **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 2012. 117 p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

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, v. 1, p. 181-207, 2011.

BERTELS, A.; ROCHA, M. A. B. Observações preliminares sobre pragas do milho. **Agros**, Lisboa, v. 3, n. 3, p. 160-183, 1950.

BIANCO, R. **Construção e validação de planos de amostragem para o manejo da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho**. 1995. 113p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

BOIÇA JUNIOR, A. L.; GALLI, J. C.; BORTOLI, S. A.; RODRIGUES, C. J. R. Análise de danos produzidos por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em cultivo de milho. **Revista de Agricultura**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 145-166, 1992.

BOKONON-GANTA, A. H.; BERNAL, J. S.; PIETRANTONIO P. V.; SÉTAMOU, M. Survivorship and development of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), on conventional and transgenic maize cultivars expressing *Bacillus thuringiensis* Cry9C and Cry1A(b) endotoxins. **International Journal of Pest Management**, Washington, v. 49, p. 169-175, 2003.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J. C. **Principles of insect pathology**. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1998. 537 p.

BOURGUET, D.; DESQUILBET, M.; LEMARIE, S. Regulating insect resistance management: the case of non-*Bt* corn refuges in the US. **Journal of Environmental Management**, New York, v. 76, p. 210-220, 2005.

BRIEGER, F. G.; GURGEL, J. T. A.; PATERNIANI, E.; BLUMENSCHHEIN, A.; ALLEONI, M. R. Races of maize in Brazil and other eastern South American countries. Washington, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1958. 283 p. (Publication, 593).

BUNTIN, G. D. A review of plant response to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), injury to select field and forage crops. **Florida Entomologist**, Georgia, v. 69, n. 3, p. 549-559, 1986.

CARNEIRO, A. A.; GUIMARÃES, C. T.; VALICENTE, F. H.; WAQUIL, J. M.; VASCONCELOS, M. J. V.; CARNEIRO, N. P.; MENDES, S. M. Milho *Bt*: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga. **Sete Lagoas: EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2009. 25 p. (Circular Técnica, 135).

CAROZZI, N.; KOZIEL, M. **Advances in insect control**. Taylor & Francis, London, 1997. p.301.

CARVALHO, R. P. L. **Danos, flutuação da população de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e suscetibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo**. 1970. 170f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1970.

CARVALHO, N. L.; BARCELLOS, A. L. Adoção do Manejo Integrado de Pragas baseado na percepção e educação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 5, n. 5, p. 749-766, 2012.

CÉLERES. **2º acompanhamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil, safra 2014/15**, Uberlândia, 2014. Disponível em: < <http://www.celeres.com.br/wordpress/wp-content/uploads/2014/12/IB1403.pdf>>. Acesso em janeiro de 2015.

CONAB. Milho – Brasil. **Levantamento da safra – Boletim novembro/2014**. Brasília, 2014. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em janeiro de 2014.

COSTA, M. A. G. **Consumo alimentar e nível de controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho e sorgo**. 2004. 98f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

COSTA, M. C. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, M. S.; BOREGAS, K. G.; FERMINO, T. C.; LOPES, M. E.; WAQUIL, J. M. Avaliação da não - preferência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) entre híbridos de milho *Bt* e não *Bt*. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 4, São Lourenço. **Anais.....** Embrapa Milho e Sorgo, 2009.

CROFT, B. A. Management of pesticide resistance in arthropod pests. In: GREEN, M.B.; MOBERG, W.K.; LEBARON, H. (eds.), **Managing resistance to agrochemicals: fundamental and practical approaches to combating resistance**. American Chemical Society, Washington, p. 149-168, 1990.

CROFT, B. A.; VAN DE BANN, H. E. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 4, p. 277-300, 1988.

CROOKSTON, R. K.; HICKS, D. R. Early defoliation effects corn grain yields. **Crop Science**, Corvallis, v. 18, n. 3, p. 485-489, 1978.

CROW, J. F. Genetics of insecticide resistance of chemicals. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 2, p. 227-246, 1957.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 1995. p. 14-45. (Circular Técnica, 21).

CRUZ, I. Lagarta-do-cartucho: enfrente o principal inimigo do milho. **Cultivar**, Pelotas, n. 1, p. 16-18, 1999.

CRUZ, I. Manejo da resistência de insetos pragas a inseticidas com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith). **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2002. 15 p. (Circular Técnico, 21).

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeitos da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 355-359, 1982.

CRUZ, I.; MONTEIRO, M. A. R. Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos de *Trichogramma pretiosum*. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2004. 4p. (Comunicado Técnico, 114).

CRUZ, I.; WAQUIL, J. M.; SANTOS, J. P.; VIANA, P. A.; SALGADO, L. O. Pragas da cultura do milho em condições de campo. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 1986. 75 p. (Circular Técnica, 10).

CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, C. A. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 293-297, 1996.

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 1998. 39 p. (Circular Técnica, 31).

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SILVA, R. B. Monitoramento de adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em algumas regiões produtoras de milho (*Zea mays* L.) no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Goiânia. **Anais.....** 28º Congresso Nacional de Milho e Sorgo, v. 28. p. 538-542, 2010.

DAVIS, F. M.; NG, S.; WILLIAMS, W. P. Visual rating scales for screening whole-stage corn resistance to fall armyworm. **Mississippi, MISSISSIPPI STATE UNIVERSITY**, p. 9, 1992. (Technical Bulletin, 186).

DAVIS, F. M.; WISEMAN, B. R.; WILLIAMS, W. P. Insect colony, planting date, and plant growth stage effects on screening maize for leaf feeding resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomology**, Winter Haven, v. 79, n. 3, p. 317-328, 1996.

De MAAGD, R. A.; BOSCH, D.; STIEKEMA, W. *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants. **Trends in Plant Sciences**, London, v. 4, p. 9-13, 1999.

DENNEHY, T. J. Decision-making for managing pest resistance to pesticides. In: FORD, M. G.; HOLLOMAN, D. W.; KHANBAAY, B. P. S.; SAWICKI, R. M. (Ed.). **Combating resistance to xenobiotics: biological and chemical approaches**. Ellis Horwood, Chichester, p. 118-126, 1987.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Recomendações técnicas para a cultura do milho**. 2 ed. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 1997. 204p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Embrapa Solos, Rio de Janeiro, 2006, 412p.

ESTRADA, R. F. A. Lista preliminar de insetos associados al maiz em Nicaragua. **Turrialba**, San José, v. 10, n. 2, p. 68-73, 1960.

EVANS, D. C.; STANSLY, P. A. Weekly economic injury levels for fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation of corn in lowland Ecuador. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, n. 6, p. 2452-2454, 1990.

FAGUNDES, A. C.; BATISTELA, A.; DAVID, Y. K.; ARNT, T.; KOHLER, C. Efeito da redução da área foliar sobre a produção de milho. **Revista da Faculdade de Agronomia da UFRGS**, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 79-84, 1976.

FAGUNDES, A. C.; BATISTELA, A.; DAVID, Y. K.; ARNT, T.; KOHLER, C. Efeitos do desfolhamento em oito estádios de desenvolvimento na produção de milho. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 13, n. 1, p. 163-171, 1977.

FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. **Produção de milho**. Agropecuária, Guaíba, 2000, 360 p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Report of the first session of the FAO. Panel of experts on integrated pest control. F.A.O. **Annals.....** Meeting Report, Itália, 1968.

FERNANDES, O.; PARRA, J. R. P.; FERREIRA NETO, A.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A.; DEMÉTRIO, C. B. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 2, n. 2, p. 25-35, 2003.

FERRÉ, J.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 501-533, 2002.

FERREIRA FILHO, J. B. S.; ALVES, L. R. A.; GOTTARDO, L. C. B.; GEORGINO, M. Dimensionamento do custo econômico representado por *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho no Brasil. In: 48º CONGRESSO SOBER, Campo Grande. **Anais....** SOCIEDADE BRASILEIRA ECONÔMICA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 2010.

FOX, L. R. Cannibalism in natural populations. **Annual review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 6, p. 87-106, 1975.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. 3. ed. Piracicaba, FEALQ, v. 10, 2002. 920 p.

GASSEN, D. N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo, 1996. 134 p.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (eds.). **Pest resistance to pesticides**, Plenum, New York, p. 769-792, 1983.

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

GOULD, F.; TABASHNIK, B. E. *Bt*-cotton resistance management. In: RISSLER, J. (Ed.). **Now or never serious new plants to save natural pest control**. Union of Concerned Scientist of USA, Cambridge, p. 67-105, 1998.

GRAY, M. Establishment of refuges critical in maintaining long-term durability of Bt hybrids. **The Bulletin**, Champaign, n. 2, 2010.

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

GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. S.; CUNHA, U. S. 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. 87-101. (Documentos, 74).

HAIN, R.; SCHREIER, P.H. Genetic engeneering in crop protection: opportunities, risks, and controversies. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 49, p. 25-119, 1996.

HOSKINS, W. M.; BORDEN, A. D.; MICHELbacher, A. E. Recommendations for a more discriminating use of insecticides. **Pacific Science Congress**, v. 5; p. 119-123, 1939.

HYNES, H. B. N. Lepidopterous pest of maize in Trinidad. **Journal of Tropical Agriculture**, Saint Augustine, v. 19, n. 10, p. 194-202, 1942.

IBGE. Instituto brasileiro de geografia e estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/indicadoresagro_19962003/default.shtm>. Acesso em setembro de 2014.

JOHNSON, R. R. Growth and yield of maize as affected by early-season defoliation. **Agronomy Journal**, New York, v. 70, n. 6, p. 995-998, 1978.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

KUMAR, S.; CHANDRA, A.; PANDEY, K.C. *Bacillus thurigiensis* (Bt) transgenic crop: na environment friendly insect-pest management strategy. **Journal of Environmental Biology**, Muzaffarnagar, v. 29, n. 5, p. 641- 653, 2008.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H. F. G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot; Smith, 1797). **O Biológico**, São Paulo, v. 19, n. 6, p.105-113, 1953.

LEITE, N. A.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; PEREIRA, E. J. G. Milho *Bt* no Brasil: a situação e a evolução da resistência de insetos. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2011. 47p. (Documentos, 133).

LEMESLE, V.; MAILLERET, L.; VAISSAYRE, M. Role of spatial and temporal refuges in the evolution of pest resistance to toxic crops. **Acta Biotheoretica**, New York, n. 58, p. 89-102, 2010.

LINDUSKA, J. J.; HARRISON, F. P. Adult sampling as a means of predicting damage levels of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in grain corn. **Florida Entomologist**, Winter Haven, v. 69, p. 254-262, 1986.

LOGUERCIO, L. P.; CARNEIRO, N. P.; CARNEIRO, A. A. Milho *Bt*: alternativa biotecnológica para controle biológico de insetos praga. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 24, p. 46-52, 2002.

LU, H. S.; CHEN, H. H. Effects of cutting young plants at different stages grain yield and quality in maize. **Journal of Agricultural Research of China**, Balkesir, v. 31, n. 1, p. 24-34, 1982.

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

LUGINBILL, P. Habits and control of the fall armyworm. **Farmer's Bulletin**, Washington, v. 15, n. 5, p. 1-11, 1990.

MACHADO, V.; FIUZA, L.M. Manejo da resistência: na era das plantas transgênicas. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 15, p. 291-302, 2011.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção de milho. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2006. p. 1-10. (Circular Técnica, 76).

MALLET, J.; PORTER, P. Preventing insect adaptation to insect resistant crops: are seed mixtures or refugia the best strategy? **Proceedings of the royal society of London. Biological Sciences**, London, v. 250, p. 165-169, 1992.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2014. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em setembro de 2014a.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Registro Nacional de Cultivares**. Brasília, 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros- autorizacoes/registro/registro-nacional-cultivares>>. Acesso em setembro de 2014b.

MARTINELLI, S. **Suscetibilidade a deltametrina e variabilidade molecular em populações de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) coletadas nas culturas do algodão e milho no Brasil**. 2006. 112f. Tese (Doutorado em ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2006.

MARTINELLI, S.; OMOTO, C. Resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas: relevância da implantação de estratégias proativas de manejo da resistência. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 34, p. 67-77, 2005.

MARTINS, J. F. da S.; BOTTON, M. Controle de insetos da cultura do arroz. In: PESKE, S. T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. (Ed.) **Produção de arroz irrigado**. Pelotas, UFPel, c. 7, p. 273-300, 1998.

MARTINS, J. F. S.; CUNHA, U. S. da; OLIVEIRA, J. V.; PRANDO, H. F. Controle de insetos na cultura do arroz irrigado. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D. de; CASTIGLIONI, E. **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria, p. 137-154, 2000.

MARUCCI, R. C.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; ARAÚJO, B. H.; MOREIRA, S. G. Levantamento de adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando armadilha de feromônio em área comercial de milho *Bt*. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Goiânia. **Anais.....** Associação Brasileira de Milho e Sorgo, p. 490-494, 2010.

MATTEN, S. R.; HEAD, G. P.; QUEMADA, H. D. How governmental regulation can help or hinder the integration of *Bt* crops within IPM programs. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (Eds.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Springer, p. 27-39, 2008.

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

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

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; FERMINO, T. C.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M.; COSTA, M. C. A.; MARUCCI, R. C.; WAQUIL, J. M. Efeito da interação entre genótipo de milho e evento geneticamente modificado contendo a toxina *Cry1A(B)* nas variáveis biológicas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 10. **Anais...** Universidade de Rio Verde, Rio Verde, p. 368-374, 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 *Cry1A(b)*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, p. 239-244, 2011.

MORRIL, W. L.; GREENE, G. L. Survival of fall armyworm larvae and yields of field corn after artificial infestations. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 67, n. 1, p. 119-123, 1974.

MURO, J.; MATEO, J. M.; ALBERDI, C. Simulation de danos de predisco em maiz (*Zea mays*, L.). II. Efectos sobre caracteres de planta, mazorca y grano. **Investigacion Agraria, Produccion y Protection Vegetables**, Madrid, v. 5, n. 3, p. 425-440, 1990.

NAKANO, O. Pragas do milho. In: NAKANO, O. **Entomologia econômica**. 2. ed. Piracicaba, ESALQ, 2011. 464 p.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S. Pragas do milho. In: NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S. **Entomologia econômica**. 2. ed. Piracicaba, ESALQ, 1975. 351 p.

NAVON, A. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection – reality and prospects. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p. 669-676, 2000.

OMOTO, C. Aspectos práticos da evolução da resistência das pragas às toxinas de *Bt* e as bases científicas da adoção (ou não) de refúgio estruturado, alternativo ou ensacado. In: 9º Congresso Brasileiro do Algodão, Brasília. **Anais.....** Embrapa Algodão, 2013.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba, 2001. 134p.

PASHLEY, D. P. Host-associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): A sibling species complex? **Annals of the Entomological Society**, Lanham, v. 79, p. 898-904, 1986.

PASHLEY, D. P. Causes of host-associated variation in insect herbivores: An example from fall armyworm, p.351-359. In KIM, K. C.; MCPHERON, B. A. (eds.), **Evolution of insect pests: Patterns of variation**. New York, 1993. 496 p.

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

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

PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. Prentice Hall, 2001, 742p.

PEREIRA, A. C. 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. 43 p. (Documentos, 232).

PINTO, A. de S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N. de. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto, 2004. 108 p.

PINTO, A. de S.; CARDOSO, R. T.; DANIELI, T.; VASCONCELOS, G. R.; SANTOS, A. C. Nível de Controle da Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), em Três Híbridos de Milho. XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Goiânia. **Anais.....** Embrapa Milho e Sorgo, 2010.

POLETTI, M.; OMOTO, C. Resistência de inimigos naturais a pesticidas: Exploração de inimigos naturais a pesticidas em programas de manejo integrado de pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Jaboticabal, v. 6, n. 30, p. 16-26, 2003.

PORTO, M. P.; SILVA, S. D. A.; WINKLER, E. I. G.; SILVA, C. A. S.; PARFITT, J. M. B. Milho em várzeas de clima temperado na região sul do Brasil: Cultivares e manejo

de solo e água. **Pelotas, EMBRAPA CLIMA TEMPERADO**, 31p. 1998 (Circular Técnica, 6).

REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 58^a; REUNIÃO TÉCNICA DO SORGO, 41^a, 2013, Pelotas, RS. **Indicações técnicas para o cultivo de Milho e de Sorgo no Rio Grande do Sul, Safras: 2013/2014, 2014/2015**. Pelotas – Embrapa Clima Temperado, 2013, 125p.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. Como a planta de milho se desenvolve. **Piracicaba: POTAFOS**, p.1-20, 2003. (Informações Agronômicas, 103).

ROUSSEUW, P. J.; LEROY, A. M. **Robust regression and outlier detection**. Ed. John Wiley & Sons, New York, 1987.

RUPPEL, R. F.; CARMONA, C. B.; FIGUEROA, A. P.; DELGADO, N. M. El control Del cogollero *Laphygma frugiperda* (Smith & Abbot) em maiz em Colombia, com anotaciones sobre otras especies. **Agricultura Tropical**, Bogotá, v. 12, n. 8, p. 499-524, 1956.

SANGOI, L.; SCHMITT, A.; ZANIN, G. C., Área foliar e rendimentos de grãos de híbridos de milho em diferentes populações de plantas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Lages, v. 6, n. 3, p. 263-271, 2007.

SANTOS, M. L.; CARVALHO, M. P.; RAPASSI, R. M. A.; MURAISHI, C. T.; MALLER, A.; MATOS, F. A. Correlação linear e espacial entre produtividade de milho (*Zea mays* L.) e atributos físicos de um latossolo vermelho distroférico sob plantio direto do Cerrado Brasileiro. **Acta Science**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 313-321, 2006.

SAS Institute. **SAS system for Windows, version 9.1**. Cary: SAS Institute, 2002.

SCHNEPF, E.; WHITELEY, H. R. Cloning and expression of the *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene in *Escherichia coli*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 78, p. 2893-2897, 1981.

SHELTON, A. M.; ZHAO, J. Z.; ROUSH, R. T. Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 47, p. 845-881, 2002.

SIEGFRIED, B. D.; SPENCER, T.; CRESPO, A.; PEREIRA, E.; MARÇON, P. Ten years of Bt resistance monitoring in the European corn borer: what we know, what we don't know, and what we can do better. **American Entomologist**, Baltimore, v. 53, p. 208-214, 2007.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em genótipos de milho**. 2002, 93 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, P. H. S. **Avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) no milho cultivado com dois níveis de fertilidade**. 1995, 84 p. Tese (Doutorado em Entomologia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M. C. Plantas transgênicas no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento-plantas**. Rondonópolis, p. 1011-1056, 2001.

SILVEIRA, L. **Monsanto vai usar semente comum na lavoura transgênica**. Brasil Econômico. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.brasileconomico.com.br/noticias/monsanto-vai-usar-semente-comum-na-lavoura-transgenica_76248.html>. Acesso em outubro de 2010.

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

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

STERN, V. M.; SMITH, R. F.; VAN DEN BOSCH, R.; HAGEN, K. S. The integrated control concept. **Hilgardia**, Berkeley, v. 28, p. 81-101, 1959.

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

SYNGENTA. **Biotecnologia: a Syngenta sempre fez primeiro**. São Paulo, 2010. Disponível

em:<<http://www.syngenta.com/country/br/pt/sobreasyngenta/biotecnologia/Pages/biotecnologianobrasil.aspx>>. Acesso em julho de 2013.

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

TEIXEIRA, F. F. Milho cultivado no Brasil e banco de germoplasma: uma forma de classificação da variabilidade genética. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2008. 11 p. (Comunicado Técnico, 155).

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 1991. 14p. (Circular técnica, 15).

VELEZ, M. C.; SIFUENTES, J. A. A. El gusano cogollero del mays. Su combate con insecticidas granulados en el vale de Apatzingan. **Agricultura Técnica en México**, Texcoco, n. 2, v. 7, p. 315-7, 1967.

VENDRAMIM, J. D.; NISHIKAWA, M. A. N. Melhoramento para resistência a insetos. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento**: plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.737-781.

VIANA, P. A. Manejo de pragas nas culturas do milho e sorgo. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 40. REUNIÃO TÉCNICA DO SORGO, 23., 1995, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 31-38, 1996.

VIÉGAS, G. P.; PEETEN, H. Sistemas de produção. In: OARTEBUABUM, E.; VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargil, v. 2, p. 453-538, 1987.

VILARINHO, E. C. **Marcação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) e dispersão de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2007. 59 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2007.

WAQUIL, J. M. Manejo Integrado de Pragas: revisão histórica e perspectivas. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Florianópolis. **Anais....** Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2002.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; LORDELLO, A. I. Controle da lagarta-do-cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Porto Alegre, v. 17, n. 2, p. 163-166, 1982.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. Cultivo do milho. Manejo Integrado de Pragas (MIP). **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2002, 16p. (Comunicado técnico, 50).

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

WAQUIL, J. M.; VILELLA, F. M. F. Gene bom. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 49, p. 22-26, 2003.

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) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho-*Bt*. **Sete Lagoas, EMBRAPA MILHO E SORGO**, 2008. p. 1-10. (Comunicado Técnico, 160).

WAQUIL, J. M.; MENDES, S. M.; VINA, P. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S. Mistura de sementes de milho *Bt* e não-*Bt* como alternativa ao refúgio estruturado. In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, Goiânia. **Anais....** Sociedade Entomológica do Brasil, 2014.

WEISE, E. **Farmers growing genetically engineered corn break rules**. USA Today. 2009. Disponível em: <http://www.usatoday.com/tech/science/2009-11-05-genetically-engineered-corn_N.htm>. Acesso em outubro de 2010.

WENDELL, L. M.; GREENE, G. L. Distribution of fall armyworm larvae. Regions of field corn plants infested by larvae. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 2, n. 2, p. 195-198, 1973.

WILLIAMS, W. P.; DAVIS, F. M. Response of corn to artificial infestation with fall armyworm and southwestern corn borer larvae. **Southwestern Entomologist**, Canyon, v.15, n. 2, p.163-166, 1990.

WILSON, R. L.; WISEMAN, B. R.; REED, G. L. Evaluation of J. C. Eldredge popcorn collection for resistance to corn earworm, fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae), and European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n. 2, p. 693-698, 1995.

ZAMBOLIM, L.; JUNQUEIRA, N. T. V. Manejo integrado de doenças da mangueira. In: ROZANE, D. E.; DAREZZO, R. J.; AGUIAR, R. L.; AGUILERA, G. H. A.; ZAMBOLIM, L. **Manga: produção integrada, industrialização e comercialização**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, v. 1, p. 377-408, 2004.

ZANCANARO, P. O. **Comparação de métodos e proporções de áreas de refúgio em dois híbridos de milho transgênico**. 2012. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2012.

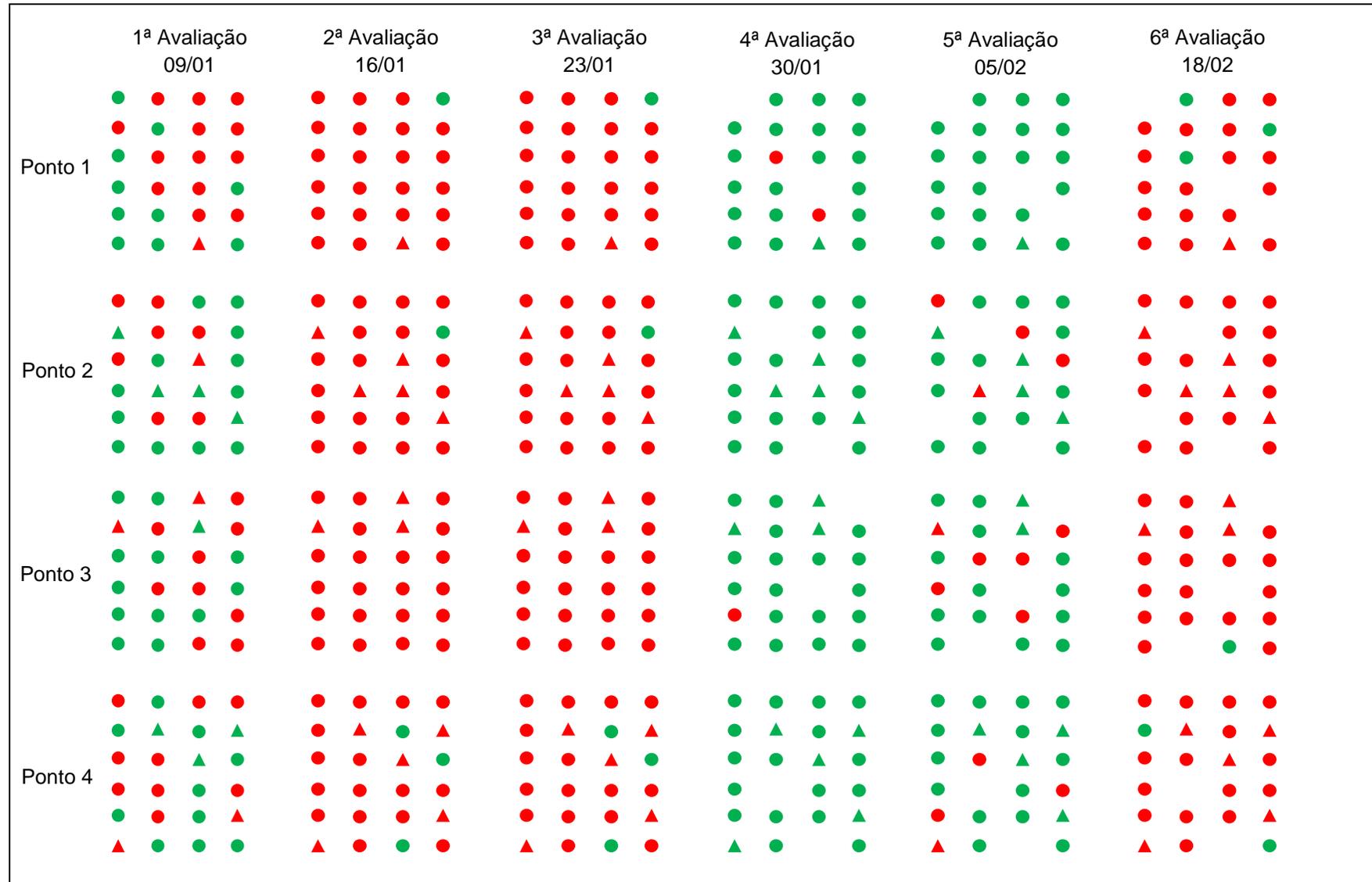
ZANCANARO, P. O.; BUCHWEITZ, E. D.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; MORO, J. R. Avaliação de tecnologias de refúgio no cultivo de milho transgênico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 7, 2012.

ZHAO, J. Z.; CAO, J.; LI, Y.; COLLINS, H. J.; ROUSH, R. T.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Transgenic plants expressing two *Bacillus thuringiensis* toxins delay insect resistance evolution. **Nature Biotechnology**, New York, v. 21, n. 12, p.1493-1497, 2003.

ZHAO, J. Z.; CAO, J.; COLLINS, H. L.; BATES, S. L.; ROUSH, R. T.; EARLE, E. D.; SHELTON, A. M. Concurrent use of transgenic plants expressing a single and two *Bacillus thuringiensis* genes speeds insect adaptation to pyramided plants. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America**, Washington, v. 102, p. 8426-8430, 2005.

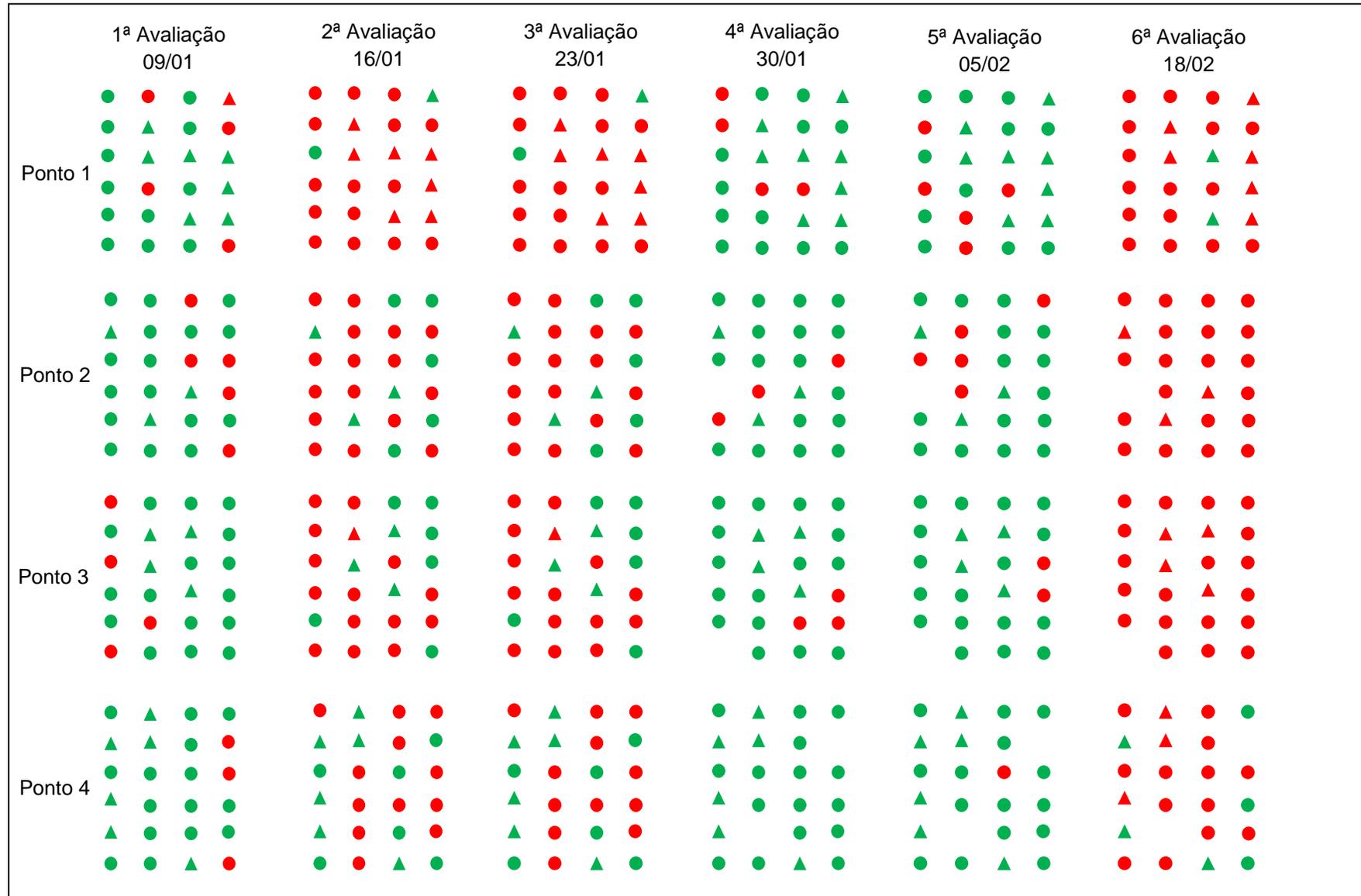
ANEXOS

Anexo A – Posição de plantas de milho *Bt* e não-*Bt* no tratamento BG7060 H (90%) + BG7060 (10%).



○ Planta convencional; ▲ Planta transgênica; Cor verde: planta não atacada; Cor vermelha: planta atacada por *Spodoptera frugiperda*.

Anexo B – Posição de plantas de milho *Bt* e não-*Bt* no tratamento AG9045 PRO2 (95%) + AG9045 (5%).



○ Planta convencional; ▲ Planta transgênica; Cor verde: planta não atacada; Cor vermelha: planta atacada por *Spodoptera frugiperda*.