

Eficiência de eventos transgênicos de resistência a insetos em soja e milho

Fernando Afonso Bedin ¹; Eloir José Assmann ²; Leandra Regina Texeira Polo ³; Ivan Schuster ⁴

Resumo: O ataque de insetos fitófagos é um dos problemas enfrentados pela agricultura. Dentre as tecnologias mais utilizadas no controle biológico de pragas encontra-se o uso de plantas transgênicas contendo genes *cry* que codificam uma proteína inseticida. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência dos eventos transgênicos de *Bacillus thuringiensis* em plantas de soja e milho em relação às suas pragas alvo. O trabalho foi desenvolvido na Empresa Coodetec, localizada no município de Cascavel – PR. As plantas de soja INTACTA RR2 PRO™ foram avaliadas para o controle das pragas alvo *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*. A avaliação teve como base o percentual de dano em discos foliares e a mortalidade das lagartas. As plantas de milho contendo os eventos HERCULEX®, VT PRO™ e POWERCORE™ foram avaliadas para o controle da praga alvo *Spodoptera frugiperda*. Para a avaliação de dano foliar foi utilizado a Escala Diagramática de Davis. Os 2 experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e a infestação ocorreu artificialmente (em planta inteira nos híbridos de milho e em discos foliares nas linhagens de soja). Os dados foram submetidos a uma análise estatística descritiva. As linhagens de soja avaliadas foram classificadas como resistentes para *A. gemmatalis* e *C. includens*, não apresentando em nenhuma das repetições nota de dano superior a 1 (5% de dano foliar), com 100% de mortalidade das lagartas. Todos os híbridos foram avaliados como não resistentes, pois não obtiveram uma nota menor ou igual a 2 em 95% das repetições de cada tratamento.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*; proteínas Bt; planta transgênica.

Transgenic events Efficiency insect resistance in soybeans and corn

Abstract: The attack of phytophagous insects is one of the problems faced by agriculture. Among the key technologies used in biological pest control is the use of transgenic plants containing *cry* genes encoding a protein insecticide. The objective was to evaluate the efficiency of transgenic *Bacillus thuringiensis* events in corn and soybean plants in relation to their target pests. The study was conducted in Coodetec Company, located in the city of Cascavel - PR. Soybean plants INTACT RR2 PRO™ were evaluated for the control of target pests *Anticarsia gemmatalis* and *Chrysodeixis includens*. The evaluation was based on the damage percentage of leaf discs and mortality of caterpillars. The corn plants containing event Herculex, VT PRO™ and POWERCORE™ were evaluated for control of the target pest *Spodoptera frugiperda*. For the evaluation of leaf damage was used Davis' Diagrammatic scale. The two experiments were conducted in a greenhouse and the infestation occurred artificially (in whole plant in corn hybrids and leaf discs in soybean lines). The data were

¹ Engenheiro Agrônomo. Faculdade Assis Gurgacz (FAG). Auxiliar de pesquisa da empresa COODETEC - Desenvolvimento, Produção e Comercialização Agrícola Ltda. fernando.bedin@coodetec.com.br

² Engenheiro Agrônomo. Doutor em Agronomia (Mississippi – USA). Professor do Curso de Agronomia da Faculdade Assis Gurgacz (FAG) – PR. assmann.eloir@gmail.com

³ Bióloga. Doutora em Genética e Melhoramento (UEM). Pesquisadora da empresa COODETEC - Desenvolvimento, Produção e Comercialização Agrícola Ltda. leandra.texeira@coodetec.com.br

Engenheiro Agrônomo. Doutor em Genética e Melhoramento (UFV). Gerente de Pesquisa da empresa

⁴ COODETEC - Desenvolvimento, Produção e Comercialização Agrícola Ltda. ivan@coodetec.com.br

submitted to a descriptive statistical analysis. The tested strains were classified as resistant to and *A. gemmatalis* and *C. includens*, not presenting in any of repetitions Note damage exceeding 1 (5% leaf damage), 100% mortality of larvae. All hybrids were assessed as strong, because it does not obtained a score less than or equal to 95% of 2 replications of each treatment.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, Bt proteins, transgenic plant.

Introdução

Pragas e doenças são um dos principais fatores que acarretam perdas mundiais na agricultura que atingem até 37% da produção, dos quais 13% são diretamente ligados a insetos. Os métodos de controle baseiam-se na utilização de agroquímicos (devido a sua praticidade e rápida resposta). Entretanto, há uma busca pelo desenvolvimento de uma agricultura limpa e sem produtos químicos, reduzindo a contaminação das águas e dos alimentos devido aos resíduos deixados (SILVA-FILHO e FALCO, 2000).

Inseticidas podem acarretar consequências ao homem e ao meio ambiente em geral, além de exterminar populações de insetos não alvos, causa o aparecimento de pragas resistentes. Contudo, deve-se reduzir este uso, adotando alternativas mais seguras para o controle (PRAÇA *et al.*, 2004).

Com o desenvolvimento da Biotecnologia, o uso de genes que codificam proteínas com atividade inseticida, tornou-se um importante controle com amplo potencial (SILVA-FILHO e FALCO, 2000). Este tipo de controle tem sido utilizado em diversas culturas como milho, algodão, arroz, soja, entre outras, tornando o controle de insetos menos agressivo ao meio ambiente (WAQUIL, 2007).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria presente no solo, gram-positiva, entomopatogênica e pode manter-se em latência na forma de endospóros. Durante a fase de esporulação, as bactérias sintetizam proteínas que se acumulam na periferia dos esporos na forma de cristais em um dos polos da célula (BOBROWSKI *et al.*, 2003).

Ao ingerir os cristais de *B. thuringiensis*, as larvas dos insetos suscetíveis sofrem ação do pH intestinal e de proteases que solubilizam os cristais e ativam as toxinas, que por sua vez, se ligam a receptores localizados no tecido epitelial do intestino da praga, quebrando o equilíbrio osmótico da célula, que se intumesce e rompe, extravasando o conteúdo intestinal para hemocele do inseto. Consequentemente, a larva para de se alimentar, entra em paralisia geral e morre por inanição ou septicemia (MONNERAT e BRAVO, 2000 *apud* PRAÇA *et al.*, 2004).

Dentre as principais culturas que se destacam no agronegócio brasileiro estão a soja (*Glycine max* (L.) Merril) e o milho (*Zea mays* L.), culturas estas cultivadas em grande escala no território nacional. A estimativa total de área plantada de milho para o Brasil na temporada de 2014/15 (primeira e segunda safra) ultrapassa os 15 milhões de hectares e com produção de quase 80 milhões de toneladas. A área plantada de soja para a safra 2014/2015 foi pouco acima de 30 milhões de hectares, com uma produção média de 95 milhões de toneladas (CONAB, 2015).

A primeira liberação de uma planta de milho transgênica no Brasil foi em 2007, com o evento YieldGard®, que expressa a proteína Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis*, e, em 2010 foi aprovado o primeiro evento Bt em soja tolerante a insetos. Esta tecnologia possui genes que codificam a expressão da proteína Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis*. Esta soja com nome comercial INTACTA RR2 PRO™ confere tolerância ao glifosato para manejo de ervas daninhas que competem com a cultura, e também, apresenta um controle contra as principais lagartas, sendo elas a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*), lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*), lagarta-das-maçãs (*Heliothis virescens*) e a broca-das-axilas (*Crocidozema aporema*), além de supressão às lagartas do tipo Elasmo (*Elasmopalpus lignosellus*) e Helicoverpa (*Helicoverpa zea* e *Helicoverpa armigera*) (BERNARDI, 2012).

A lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*) é um inseto polífago, com preferência de alimentação a cultura da soja, mas, com registros de surtos em diversas outras culturas. O ataque da praga geralmente ocorre em novembro e dezembro, podendo causar até 100% de desfolhamento em alta infestação (HOFFMANN-CAMPO, 2000).

A lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) têm se tornado ao longo dos anos uma desfolhadora abundante da cultura da soja (PINTO *et al.*, 2008). A espécie é polífaga e de difícil controle, quando comparada com a *A. gemmatalis* (SOSA-GÓMEZ, 2014).

Além de polífaga, a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) se alimenta das plantas em diferentes estádios, fazendo com que a planta fique vulnerável por um longo período quando atacada em estágio inicial (SÁ *et al.*, 2005).

A cultura do milho é o principal hospedeiro da *S. frugiperda* e o sucesso da lagarta como praga se dá pela elevada capacidade de dispersão dos adultos ao longo da faixa de distribuição de suas plantas hospedeiras (SPARKS, 1979 *apud* BERNARDI, 2012).

Para controle das pragas alvo da cultura do milho, em especial a *Spodoptera frugiperda*, a *Diatraea saccharalis* e a *Helicoverpa zea*, foram desenvolvidas as tecnologias HERCULEX®, YIELDGARD VT PRO™, VT PRO 2™, VIPTERA®, YELDGARD® e

POWERCORE™, tendo grande eficiência para o controle dessas pragas e até mesmo dispensar a aplicação de inseticidas (MENDES *et al.*, 2009).

A tecnologia HERCULEX® expressa a proteína Cry1F de *B. thuringiensis* (SILVA, 2013). A tecnologia YIELDGARD VT PRO™ foi desenvolvida a partir de um evento piramidado pela combinação de genes que codificam as proteínas Cry1A.105 e Cry2Ab de *B. thuringiensis* (WAQUIL *et al.* 2013).

POWERCORE™ é a tecnologia formada a partir da união das tecnologias HERCULEX® e VT PRO 2™. A tecnologia apresenta um controle mais efetivo devido à redução da resistência das pragas alvo perante as três proteínas em uma mesma planta (SILVA, 2013).

A resistência das pragas é o desenvolvimento de uma mutação genética ou característica herdada, capaz de tolerar doses tóxicas que seriam letais para uma população de indivíduos da mesma espécie. A alta pressão de seleção natural causa o aumento da frequência de indivíduos resistente em relação às proteínas de Bt. Desta forma, os indivíduos podem crescer e se desenvolver se alimentando dessas plantas sem causar dano algum, e em seguida, se acasalar e originar descendentes viáveis e tolerantes (CROW, 1957; ANDOW, 2008 *apud* BERNARDI, 2012).

As estratégias de manejo da resistência começaram a ser utilizadas há muito tempo, quando se detectou os primeiros casos de evolução da resistência dos organismos-alvo sobre os produtos químicos aplicados para controle dos mesmos. Estudos realizados nesta época mostraram que esta evolução era apenas uma questão de tempo, mas, que pode ser retardada com o uso de estratégias de manejo que podem ser utilizadas juntas. São elas: Monitoramento, alta dose proteína combinado ao refúgio, piramidação de genes, baixa dose de proteína combinado com MIP, rotação de culturas, mistura de sementes, entre outras (LEITE, *et al.*, 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência dos eventos transgênicos em plantas de soja com a tecnologia INTACTA RR2 PRO™ no controle da *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* e em plantas de milho com a tecnologia HERCULEX®, VT PRO™ e POWERCORE™ no controle da *Spodoptera frugiperda*, estas classificadas como pragas-alvo para as respectivas culturas.

Material e Métodos

Bioensaio em linhagens de soja

O experimento foi realizado na Empresa Coodetec, localizada no município de Cascavel – PR, BR-467, Km 98. Foram avaliadas 10 linhagens de soja com a tecnologia INTACTA RR2 PROTM oriundas do programa de melhoramento de soja da empresa Coodetec, para o controle de *Chrysodeixis includens* e *Anticarsia gemmatalis* com infestação artificial. As lagartas foram adquiridas na empresa BUG – Agentes Biológicos. Como testemunha foram utilizados 2 cultivares convencionais, a NA5909 RG para o experimento com *C. includens* e CD237 RR para o experimento com *A. gemmatalis*. Para cada linhagem foram utilizados 5 vasos com 2 sementes por tratamento. As plantas foram conduzidas em vasos em casa de vegetação com temperatura e umidade controladas e com todos os tratos culturais necessários para seu desenvolvimento, eliminando somente o controle químico com inseticidas e tratamento de sementes, evitando qualquer tipo de resíduo.

Aos 35 dias, ao final do estádio V2 foi confirmada a presença da proteína Cry1Ac de *B. thuringiensis* usando fita de detecção de OGM e em seguida procedeu-se com o desbaste mantendo uma planta por vaso.

Quando detectado percentual superior a 50% de plantas em desenvolvimento V5/V6 foi realizada a coleta da penúltima folha trifoliada totalmente expandida de cada planta/repetição. Imediatamente após a coleta o material foi acondicionado em sacos plásticos, previamente identificados. Em seguida foram conduzidos ao laboratório para a condução do experimento.

Com o auxílio de um furador circular de 10 mm, foram retirados 4 discos foliares do folíolo central para os ensaios com *A. gemmatalis* e posteriormente mais 4 discos foliares do mesmo folíolo para os ensaios com *C. includens*, totalizando 8 discos foliares por trifólio. Este processo foi realizado com 5 trifólios (5 plantas por linhagem), totalizando 40 discos foliares de cada cultivar (20 discos para *A. gemmatalis* e 20 discos para *C. includens*). O mesmo procedimento foi realizado para gerar os discos foliares do controle negativo.

Com o auxílio de uma pinça, os discos foliares foram transferidos para as placas de Bioensaio (duas para cada praga) contendo Ágar 2%, em seguida transferido 1 lagarta neonata (<24 horas de eclosão) para cada cavidade/disco foliar. As placas foram incubadas por 72 horas em um ambiente controlado com temperatura de 28º C, 70% de umidade relativa do ar e um fotoperíodo de 14 horas.

A avaliação foi feita 4 dias após a incubação. A avaliação teve como base o estado biológico das lagartas (mortas ou vivas) e o percentual de dano causado no disco foliar através de uma escala visual de notas com variação entre 0 e 11 (Tabela 01) (BERNARDI, 2012).

As repetições dos tratamentos que apresentaram dano com nota menor ou igual a 1, ou seja, até 5% de dano foliar, foram classificadas como resistentes. As repetições que obtiveram nota superior a 1, ou seja, mais que 5% de dano no foliar e/ou não apresentarem 100% de mortalidade de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* foram classificadas como não resistentes. Os dados obtidos foram submetidos a uma análise estatística descritiva.

Tabela 1 - Escala de notas baseado em percentual de dano de disco foliar de soja pela infestação das lagartas

NOTAS	% DANO
0	0%
1	Até 5%
2	> 5% a 10%
3	> 10% a 15%
4	> 15% a 20%
5	> 20% a 25%
6	> 25% a 30%
7	> 30% a 35%
8	> 35% a 40%
9	> 40% a 45%
10	> 45% a 50%
11	> 50%

Fonte: (Bernardi, 2012)

Bioensaio em Híbridos de milho

O experimento foi realizado na Empresa Coodetec, localizada no município de Cascavel – PR, BR-467, Km 98. Foi avaliada a eficiência de diferentes eventos transgênicos em híbridos de milho para o controle da praga-alvo *Spodoptera frugiperda*. Os híbridos utilizados foram: CD384 Herculex, CD384 Powercore, CD384 Convencional, CD316 Herculex, CD316 PRO2 e CD316 Convencional. A versão convencional dos híbridos foi utilizada como testemunha.

O delineamento experimental dos ensaios foi inteiramente casualizado, sendo 2 repetições com 10 plantas por tratamento. O plantio foi realizado em casa de vegetação e as plantas conduzidas com os tratos culturais necessários para o seu desenvolvimento, eliminando o controle químico com inseticidas e tratamento de sementes. O espaçamento

entre linhas foi de 0,55 m e entre plantas de 0,25 m. A infestação foi artificial com populações suscetíveis de *Spodoptera frugiperda*.

Cada planta foi infestada com 40 lagartas neonatas de *S. frugiperda* aproximadamente entre o estádio vegetativo V4 a V6. As lagartas foram inoculadas no interior do cartucho de todas as plantas de milho 40 dias após o plantio. Após 3 dias da infestação foi realizado uma pré-avaliação e verificado a eficiência da infestação, com lesões nas folhas dos tratamentos convencionais (testemunhas).

A avaliação de dano foliar foi realizada 14 dias após a infestação em 100% das plantas infestadas. A eficiência de cada evento transgênico para o controle de *Spodoptera frugiperda* foi definido em repetições que obtiveram uma nota de dano foliar menor ou igual a 2 em pelo menos 95% do número total de plantas avaliadas por tratamento, com base em uma escala visual de danos de 0 a 9, descrita pela Escala Diagramática de Davis (DAVIS *et al*, 1992 *apud* FERNANDES *et al*, 2003) (Tabela 2).

Tabela 2 - Descrição do nível de dano por insetos da Escala Diagramática de Davis

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

Fonte: (Fernandes *et al*, 2003)

Resultados e Discussão

Na figura 1 pode-se observar o dano médio dos tratamentos. As notas obtidas em todas as repetições foram menores ou igual a 1 (menor ou igual a 5% de dano foliar), sendo assim todos os tratamentos contendo a proteína Cry1Ac foram classificados como resistentes para a *Anticarsia gemmatalis*.

A média das notas obtidas da cultivar CD237 RR utilizada como testemunha foi de 7,7 (maior que 35% de dano foliar) e 60% delas foram superiores a 11 (>50% de dano). Na figura 2 pode ser observado que o controle foi totalmente eficaz nos 10 tratamentos, com 100% de mortalidade de *Anticarsia gemmatalis* para as linhagens contendo a proteína Cry1Ac. A testemunha encontrava-se com 80% das lagartas vivas.

Figura 1 - Dano médio dos tratamentos submetidos à *Anticarsia gemmatalis*.

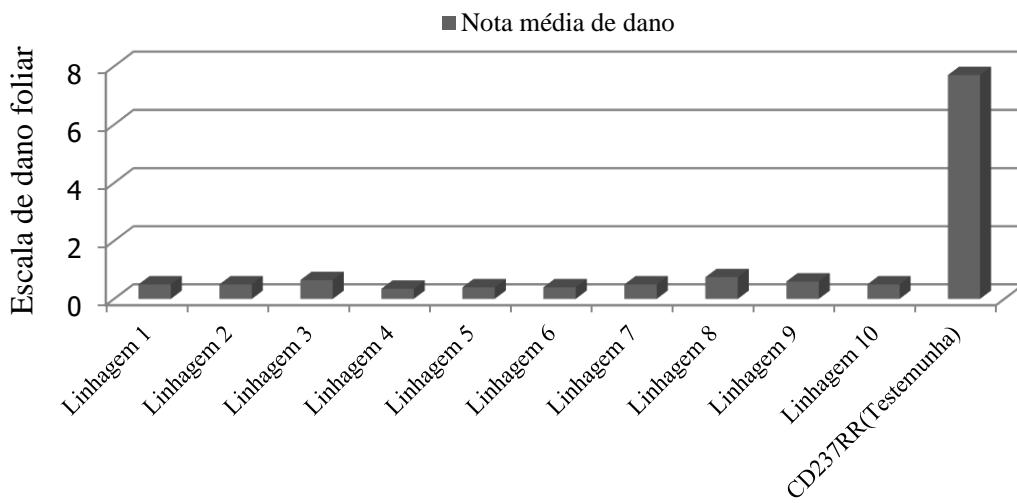
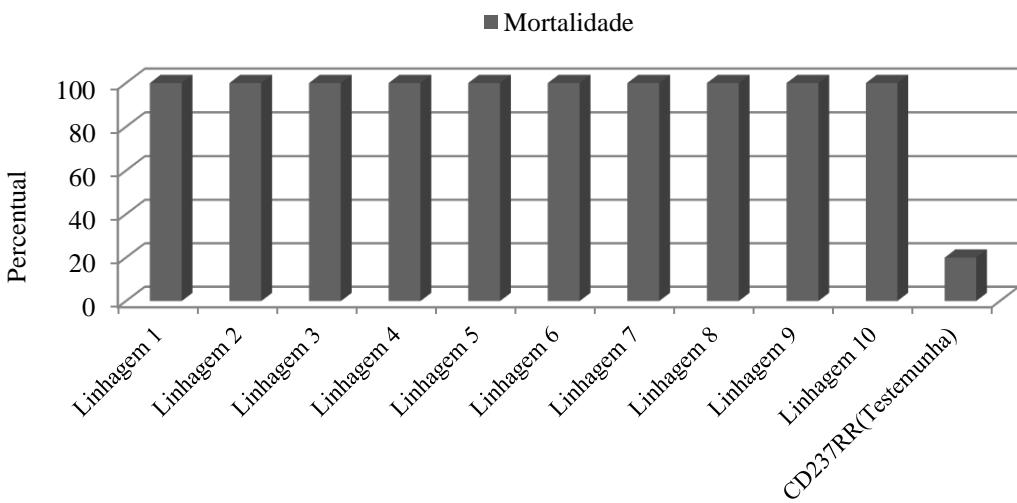


Figura 2 - Percentual de mortalidade de *Anticarsia gemmatalis* em linhagens de soja contendo a proteína Cry1



Na figura 3 pode-se observar o dano médio de todos os tratamentos. Todas as repetições apresentaram nota menor ou igual a 1 (menor ou igual a 5% de dano foliar), sendo assim todos os tratamentos contendo a proteína Cry1Ac foram classificados resistentes para *Chrysodeixis includens*.

A média das notas obtidas da cultivar NA5909 RG utilizada como testemunha foi de 7,25 (maior que 35% de dano foliar) e 50% delas foram superiores a 10 (>45% e 50% de dano).

Pode-se analisar na figura 4 que todas as linhagens foram eficientes no controle de *Chrysodeixis includens*, tendo 100% de mortalidade em todas as repetições contendo a proteína Cry1Ac. A testemunha encontrava-se com 75% das lagartas vivas.

A proteína Cry1Ac em geral é mais ativa para o controle de *A. gemmatalis* do que para *C. includens*. Contradicitoriamente, comparando a figura 1 e a figura 3, os níveis de dano nos discos foliares foram maiores para a *Anticarsia gemmatalis*, porém, o controle foi satisfatório para ambos os experimentos. Este algo grau de controle de *A. gemmatalis* e *C. includens* é devido à expressão da proteína Cry1Ac ser em níveis elevados durante todo o desenvolvimento da planta (BERNARDI, 2012).

Figura 3 - Dano médio dos tratamentos submetidos à *Chrysodeixis includens*.

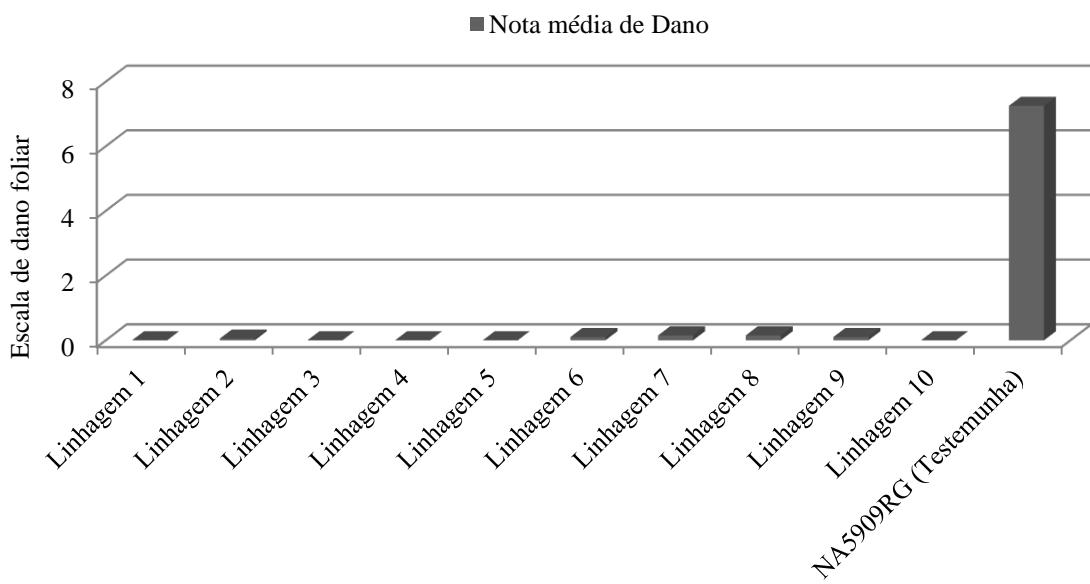
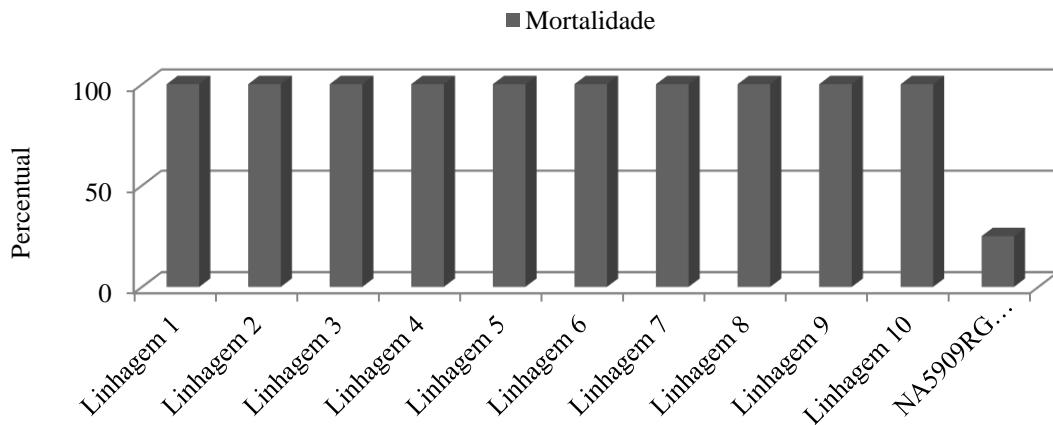
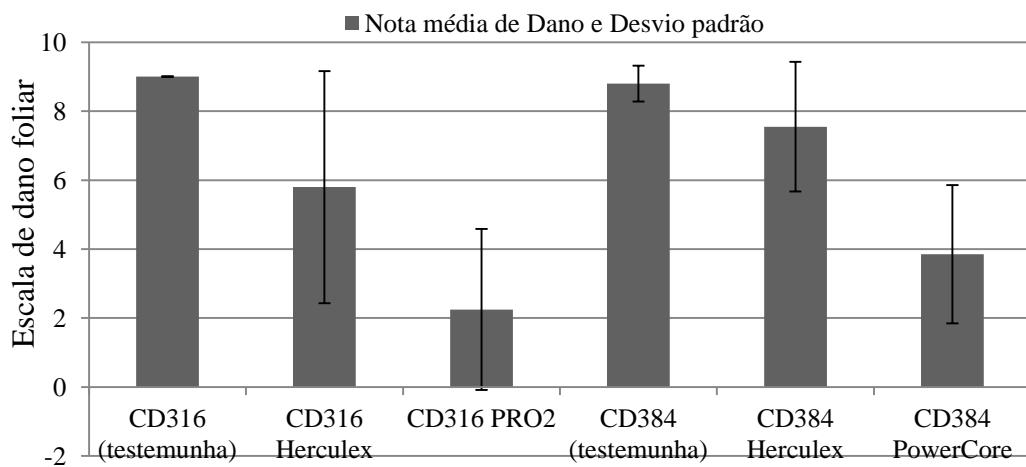


Figura 4 - Percentual de mortalidade de *Chrysodeixis includens* em linhagens de soja contendo a proteína Cry1Ac.



Na figura 5 podemos observar os danos causados pela *S. frugiperda* e as notas atribuídas segundo a Escala Diagramática de Davis (tabela 2). Os híbridos de milho CD316 e CD384 convencionais utilizados como testemunha obtiveram uma nota média de dano de 9 e 8,8 respectivamente, ou seja, a maioria das plantas nos dois tratamentos foram avaliadas como totalmente destruídas, consequentemente o desvio padrão obtido foi baixo (as notas atribuídas ficaram próximas a média). O híbrido CD316 Herculex obteve uma nota média de 5,8 e o desvio padrão de 3,33. Foi o tratamento em que as notas mais se distanciaram da média, com 50% das plantas avaliadas com notas superiores ou iguais a 8. O híbrido CD316 PRO2 obteve uma nota média de 2,25. Também foi o tratamento que mais se aproximou de um controle de *S. frugiperda*, com 16 das 20 plantas avaliadas com nota menor ou igual a 2. O desvio padrão foi de 2,33.

Figura 5 - Dano médio e o desvio padrão dos tratamentos submetidos à infestação artificial de *Spodoptera frugiperda*.



O híbrido CD384 Herculex teve o pior desempenho entre os tratamentos avaliado. As lesões encontradas nas repetições deste tratamento lhe proporcionou uma nota média equivalente a 7,55 e um desvio padrão consideravelmente baixo (1,87). O híbrido CD384

Powercore obteve uma nota média de 3,85 e um desvio padrão de 2,0. O híbrido com a tecnologia Powercore é constituído de 3 proteínas inseticidas (Cry1F, Cry2Ab e Cry1A.105) e mesmo assim não obteve um controle satisfatório.

Todos os híbridos Bt foram reprovados e classificados como não resistentes, pois o critério de avaliação adotado especifica que o controle de *S. frugiperda* é definido quando uma nota menor ou igual a 2 é obtida em pelo menos 95% das plantas avaliadas (Escala Diagramática de Davis) (tabela 2).

A população de *S. frugiperda* utilizada neste experimento foi adquirida com o intuito de ser devidamente suscetível às toxinas de *B. thuringiensis*, porém os resultados demonstram claramente a presença de genes de resistência em *S. frugiperda* devido à severidade do ataque e os danos causados nos tratamentos. Segundo Machado e Fiúza (2010), não se tem o conhecimento de alguma população natural de pragas resistentes a estas toxinas. O aumento da frequência de genes de resistência é resultado da pressão de seleção constante e intensa das pragas.

A evolução da resistência às toxinas Bt é devido a diversos fatores relacionados entre si, dentre eles o material genético da planta transgênica, biologia, ecologia e genética da praga, manejo da cultura e ambiente de cultivo. Para retardar a evolução da resistência e prolongar o tempo de utilização das tecnologias deve-se adotar um conjunto de práticas denominadas manejo da resistência, sendo uma das principais estratégias a alta dose de toxina na planta relacionado ao refúgio estruturado (MAIA, 2005).

Conclusão

Com base nos resultados apresentados no Bioensaio com linhagens de soja, todas as linhagens foram avaliadas com uma nota menor ou igual a 1, ou seja, todos os tratamentos contendo a proteína Cry1Ac foram resistentes à infestação artificial de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*, oriundas de uma população naturalmente suscetível.

Todos os híbridos contendo os eventos HERCULEX, PRO2 e POWERCORE não foram resistentes à *Spodoptera frugiperda*, pois não obtiveram nota menor ou igual a 2 (5% dano foliar) em pelo menos 95% das repetições de cada tratamento.

Referências

BERNARDI, O. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros - praga (Lepidóptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 × MON 89788 no Brasil. **Universidade de São Paulo, USP-Esalq**, Piracicaba, 2012.

BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência rural**, Santa Maria, RS. v.34, n.1, p.843-844, 2003.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira**. Grãos - Safra 2014/2015. Oitavo levantamento. p.85-92, 2015.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R.; NETO, A. F.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B. Efeito do milho geneticamente modificado mon810 sobre a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) (J. E. Smith, 1797) (lepidóptera: noctuidae). **Revista brasileira de milho e sorgo**, v.2, n.2, p.25-35, 2003.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORSO, I. C.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J. SOSA-GÓMES, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Embrapa soja. 2000. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circotec30_000g46xpyyv02wx5ok0iuqaqkb_bpq943.pdf> acesso em 12 maio 2015.

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

MACHADO, V.; FIUZA, L. M. Evolução e manejo de resistência de insetos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Nº 38, p.68-70. 2010.

MAIA, A. DE H. N. Definindo estratégias de manejo da resistência de pragas a toxinas *Bt* expressas em culturas transgênicas: o papel dos modelos de simulação. **Embrapa meio ambiente**, Jaguariúna, 2005.

MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A. Manejo integrado de pragas em lavouras plantadas com milho geneticamente modificado com gene *Bt* (Milho *Bt*). **Embrapa milho e sorgo**. Sete Lagoas, 2009.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA H. N. **Guia de campo de pragas e insetos benéficos da soja**. Piracicaba, 2008. Disponível em <<http://www.atividaderural.com.br/artigos/4fb3eadd5d6da.pdf>> acesso em 14 maio 2015.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidóptera, Coleóptera e Díptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, 2004.

SÁ, V. G. M. DE; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 38, n.1, p.108-115, Londrina, 2009.

SILVA-FILHO, M. C.; FALCO, M. C. Interação planta-inseto: adaptação dos insetos aos inibidores de proteinase produzidos pelas plantas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.2, p.38-42, 2000.

SILVA, G. V., Efeito de plantas *Bt* de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais. Curitiba, PR. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). **Universidade Federal do Paraná**. p.01-03, 2013.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, E. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. DE F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. Embrapa soja**. Londrina, 2014.

WAQUIL, J. M. **Manejo fitossanitário e ambiental**: milho transgênico *Bt* e resistência das plantas ao ataque da lagarta-do-cartucho. 2007. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/manfito/index.htm>. Acesso em: 7 fev. 2014.

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