**EFEITO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
(MON810) EM *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) E
NO PARASITÓIDE DE OVOS *Trichogramma* spp.**

ODNEI DONIZETE FERNANDES

**Tese apresentada à Escola
Superior de Agricultura “Luiz de
Queiroz”, Universidade de São
Paulo, para obtenção do título
de Doutor em Ciências, Área de
Concentração: Entomologia.**

**PIRACICABA
Estado de São Paulo – Brasil
Janeiro – 2003**

**EFEITO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
(MON810) EM *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) E
NO PARASITÓIDE DE OVOS *Trichogramma* spp.**

ODNEI DONIZETE FERNANDES

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo – Brasil
Janeiro – 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Fernandes, Odnei Donizete

Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. /
Odnei Donizete Fernandes. - - Piracicaba, 2003.
164 p.

Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.
Bibliografia.

1. Bactéria entomopatogênica 2. Lagarta 3. Inseto nocivo 4. Integração planta-
inseto 5. Melhoramento genético 6. Milho 7. Tricogramatideo I. Título

CDD 633.15

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

*A DEUS,
fonte de perseverança e vida*

AGRADEÇO

*À minha esposa, Silvana e
À minha filha Caroline
pelo amor, carinho e incentivo,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ESALQ/USP, pela oportunidade concedida;

À MONSANTO do Brasil Ltda pelo incentivo recebido durante o curso, bem como pelo apoio no desenvolvimento da presente pesquisa;

Ao Dr. José Roberto Postali Parra, professor titular do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela orientação, apoio, incentivos e ensinamentos;

À Dra Ranyse Barbosa Querino pela identificação das espécies de *Trichogramma*;

Ao Dr. Roberto Antonio Zucchi coordenador do laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP, pela colaboração na identificação das espécies de *Trichogramma*;

Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelos valiosos ensinamentos recebidos;

À Dra. Clarice Garcia Borges Demétrio, ao Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, Professores do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP, e Adriano Ferreti Borgatto, pós-graduando no mesmo Departamento, pela orientação e auxílio na análise estatística dos resultados;

À Neide Graciano Zério, técnica do laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, e ao Engenheiro Agrônomo Peter Kasten Jr., do mesmo Departamento, pelo auxílio na realização dos trabalhos;

Aos Engenheiros Agrônomos Antonio Ferreira Neto, Rubens Pícoli, Marcelo Campello Montezuma e Ruben de Brito Silva do Departamento de Tecnologia da Monsanto do Brasil, pelo auxílio na realização dos experimentos de campo;

À Bióloga Rosa Molina da Silva, pós-graduanda do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelo apoio ao trabalho contribuindo com a criação de *Trichogramma* utilizado na pesquisa;

À Dra. Francisca Nemauro Pedrosa Haji, do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Petrolina, PE, pelo fornecimento da colônia inicial de *Trichogramma atopovirilia*;

Aos Engenheiros Agrônomos Ademir Diniz Neves e Dori Edson Nava, pós-graduandos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelo apoio nos trabalhos de biologia auxiliando na condução e avaliação dos mesmos;

- A Odair Machado da Silva Filho e Amauri Asselli Frizzas, estagiários do laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP), pelo auxílio na condução e avaliação dos trabalhos;
- Ao Dr. Alexandre Sene Pinto, professor do Centro Universitário Moura Lacerda pelo auxílio na formatação do texto e artes gráficas.
- Ao Biólogo Heraldo Negri de Oliveira, técnico do laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pelo auxílio na produção de fotografias utilizadas no presente trabalho;
- À Silvia Maria. Zinsly, bibliotecária da ESALQ/USP, pela revisão efetuada nas referências bibliográficas;
- A todos os colegas do curso de Pós-graduação em Entomologia da ESALQ/USP, pelo apoio na realização deste trabalho;
- Aos demais funcionários do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho;
- A todos aqueles que fazem parte do meu convívio, e que direta ou indiretamente me auxiliaram para finalizar com êxito este trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xii
SUMMARY	xv
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1 Aspectos biológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) em milho convencional e em milho geneticamente modificado	04
2.1.1 Biologia de <i>S. frugiperda</i> em alimentos naturais convencionais	04
2.1.2 Biologia de lepidópteros (Noctuidae e Crambidae) em plantas geneticamente modificadas	07
2.1.3 Consumo foliar e nutrição quantitativa de <i>Spodoptera</i> spp.	10
2.1.4 Canibalismo em lepidópteros (Noctuidae)	12
2.2 Aspectos ecológicos de <i>S. frugiperda</i>	14
2.2.1 Comportamento de oviposição de <i>S. frugiperda</i> e distribuição da postura em plantas convencionais	16
2.2.2 Comportamento de oviposição de lepidópteros e distribuição da postura em plantas geneticamente modificadas	18
2.3 Efeito da planta geneticamente modificada em infestações de lepidópteros-praga na cultura do milho	20

2.4	Descrição geral da ocorrência de inimigos naturais em milho, com ênfase aos parasitóides de ovos de <i>S. frugiperda</i>	24
2.4.1	Abordagem sobre interação tritrófica: planta geneticamente modificada, pragas e parasitóides	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	Estudo da biologia comparada de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797)	32
3.1.1	Obtenção da praga e das plantas	32
3.1.1.1	Criação estoque de <i>S. frugiperda</i>	32
3.1.1.2	Obtenção de plantas de milho convencional e geneticamente modificado (MON810)	34
3.1.2	Desenvolvimento biológico de <i>S. frugiperda</i> em milho convencional e geneticamente modificado (MON810)	37
3.1.2.1	Biologia comparada em milho convencional e geneticamente modificado	37
3.1.2.1.1	Análise estatística	41
3.1.2.2	Tabela de vida de fertilidade	41
3.1.2.3	Consumo foliar	42
3.1.2.3.1	Análise estatística	44
3.1.2.4	Nutrição quantitativa	44
3.1.2.4.1	Análise estatística	46
3.1.2.5	Canibalismo de <i>S. frugiperda</i> em milho convencional e geneticamente modificado (MON810)	47
3.2	Avaliação da infestação de <i>S. frugiperda</i> em milho geneticamente modificado	49
3.2.1	Efeito do nível de infestação de <i>S. frugiperda</i> , em diferentes estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810), nos danos da praga	49
3.2.1.1	Análise estatística	53

3.2.2	Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação natural de <i>S. frugiperda</i>	54
3.2.2.1	Análise estatística	55
3.3	Interação tritrófica: <i>S. frugiperda</i> , <i>Trichogramma atopovirilia</i> (Oatman & Platner, 1983) e milho geneticamente modificado (MON810)	56
3.3.1	Avaliação da qualidade de ovos de <i>S. frugiperda</i> , alimentada em milho geneticamente modificado, no desenvolvimento e parasitismo de <i>T. atopovirilia</i>	56
3.3.1.1	Obtenção da planta, praga e parasitóide	56
3.3.1.1.1	Obtenção de plantas de milho convencional e geneticamente modificado	57
3.3.1.1.2	Criação de <i>S. frugiperda</i>	57
3.3.1.1.3	Criação de <i>T. atopovirilia</i>	57
3.3.1.2	Efeito da procedência dos ovos de <i>S. frugiperda</i> no desenvolvimento de <i>T. atopovirilia</i>	58
3.3.1.2.1	Interação do milho geneticamente modificado (MON810), <i>S. frugiperda</i> e <i>T. atopovirilia</i> em sucessivas gerações do parasitóide	59
3.3.1.2.2	Interação do milho geneticamente modificado (MON810), <i>S. frugiperda</i> e <i>T. atopovirilia</i> após sucessivas gerações da praga	61
3.3.1.3	Análise estatística	63
3.3.2	Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de <i>S. frugiperda</i> , em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes estádios fenológicos da cultura	64
3.3.2.1	Distribuição espacial e temporal de posturas de <i>S. frugiperda</i>	65
3.3.2.2	Parasitismo natural por <i>Trichogramma</i> spp.	66
3.3.2.3	Análise estatística	66

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1	Biologia comparada de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) em milho MON810 e convencional	69
4.1.1	Fase larval	69
4.1.1.1	Número de ínstaes e respectivas durações	70
4.1.2	Fase de pré-pupa	77
4.1.3	Fase de pupa	78
4.1.3.1	Peso de pupa	81
4.1.4	Fase adulta	84
4.1.4.1	Longevidade	84
4.1.4.2	Duração dos períodos de pré-oviposição e oviposição	85
4.1.4.3	Postura e acasalamento	87
4.1.5	Fase de ovo	91
4.1.6	Deformação em pupas e adultos	92
4.1.7	Ciclo total (ovo a adulto)	93
4.1.8	Tabela de vida de fertilidade	96
4.1.9	Canibalismo de <i>S. frugiperda</i> em milho convencional e MON810	98
4.1.10	Consumo foliar e alimentação quantitativa	101
4.2	Avaliação do efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação e dano de <i>S. frugiperda</i>	103
4.2.1	Efeito do nível de infestação de <i>S. frugiperda</i> , em diferentes estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810), nos danos da praga	103
4.2.2	Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação natural de <i>S. frugiperda</i>	115
4.3	Interação tritrófica: milho geneticamente modificado (MON810), <i>S. frugiperda</i> e <i>Trichogramma atopovirilia</i> (Oatman & Platner, 1983)	124

4.3.1	Interação do milho geneticamente modificado (MON810), <i>S. frugiperda</i> e <i>T. atopovirilia</i> em sucessivas gerações do parasitóide	124
4.3.2	Interação do milho geneticamente modificado (MON810), <i>S. frugiperda</i> e <i>T. atopovirilia</i> após sucessivas gerações do praga	129
4.4	Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de <i>S. frugiperda</i> em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em diferentes estádios fenológicos do milho	131
4.4.1	Distribuição espacial e temporal de posturas de <i>S. frugiperda</i>	131
4.4.2	Parasitismo natural por <i>Trichogramma</i> spp.	136
5	CONCLUSÕES	140
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	142

**EFEITO DO MILHO GENETICAMENTE MODIFICADO
(MON810) EM *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) E NO
PARASITÓIDE DE OVOS *Trichogramma* spp.**

Autor: **ODNEI DONIZETE FERNANDES**

Orientador: **Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

RESUMO

A presente pesquisa teve por objetivo estudar a biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) no milho MON810, que expressa a proteína Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis* Berliner, bem como avaliar a interação tritrófica: milho MON810 vs *S. frugiperda* vs *Trichogramma* spp.. A biologia de *S. frugiperda* foi avaliada, por três gerações sucessivas em laboratório, utilizando-se o milho convencional e MON810. Os insetos mantidos em folhas de milho MON810 apresentaram maior duração do período larval e pré-pupaL, com menor viabilidade do que aqueles alimentados em milho convencional. A fase de pupa (fêmea e macho) foi similar entre os tratamentos, apesar da menor viabilidade e menor peso de pupas no milho MON810. Apesar da ação deletéria da proteína *Bt*, presente no milho geneticamente modificado para as fases imaturas de *S.*

frugiperda, a longevidade dos adultos, o período de oviposição, o número de posturas, o número médio de ovos por postura e a duração da fase de ovo foram semelhantes entre os tratamentos. O número total de ovos por fêmea, no entanto, foi menor no milho geneticamente modificado. A duração média do ciclo biológico (ovo – adulto) foi maior em insetos mantidos em milho MON810, sendo a viabilidade total menor neste substrato. Foi observado que a taxa líquida de reprodução (R_0) e a razão finita de aumento (λ) foram menores nos insetos alimentados em milho MON810. As lagartas de *S. frugiperda* apresentaram comportamento canibal independente do substrato alimentar utilizado; porém, tal canibalismo foi mais acentuado no milho MON810, provavelmente devido a presença da proteína *Bt*. O consumo de área foliar por lagartas de *S. frugiperda* foi menor no milho MON810, sendo a eficiência do alimento digerido (ECD) menor e o custo metabólico maior neste substrato, em relação ao milho convencional. Em nível de campo, através de experimentos com infestações artificiais e naturais de *S. frugiperda*, observou-se que o milho MON810 determinou a redução populacional deste lepidóptero, nos diferentes estádios fenológicos estudados, protegendo a cultura do dano da praga. Os estudos de interação milho MON810 vs *S. frugiperda* vs *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner, 1983) foram efetuados por cinco gerações consecutivas do parasitóide e da praga em laboratório. Observou-se que não houve diferenças quanto a capacidade de parasitismo, a porcentagem de emergência, o número de parasitóides emergidos, a razão sexual e a longevidade do parasitóide quando *T. atopovirilia* foi criado em ovos de fêmeas que alimentaram-se de milho MON810 ou milho convencional. A qualidade nutricional dos ovos de *S. frugiperda* foi semelhante entre os tratamentos, não ocorrendo prejuízos ao parasitismo por *T. atopovirilia*. Em campo, a distribuição de posturas de *S. frugiperda*, em relação ao estágio fenológico da planta e superfície da folhas, foi semelhante entre os milhos MON810 e convencional. A porcentagem de ovos

naturalmente parasitados por *Trichogramma* spp. também foi similar entre estes tratamentos, ocorrendo a predominância da espécie *T. pretiosum* (Riley, 1879) em relação a *T. Atopovirilia* condições de campo.

**EFFECT OF GENETICALLY MODIFIED CORN (MON810) ON
Spodoptera frugiperda (J. E. SMITH, 1797) AND ON EGG
PARASITOID *Trichogramma* spp.**

Author: **ODNEI DONIZETE FERNANDES**

Adviser: **Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

SUMMARY

The objectives of this research were to study the biology of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) on MON810, that expresses the protein Cry1Ab from *Bacillus thuringiensis* Berliner, and to evaluate the tritrophic interactions: MON810 vs *S. frugiperda* vs *Trichogramma* spp.. The biology of *S. frugiperda* was evaluated under laboratory conditions for three consecutive generations on MON810 and conventional corn leaves. Insects that fed on MON810 showed longer larval and pre pupae stages duration and lower viability, compared to the larvae that fed on conventional corn. The duration of pupae stage (for both female and male) was similar for both treatments, however the viability of this stage was lower on MON810 and the pupae were smaller on this food source. Despite of the deleterious effect of the *Bt* protein expressed by MON810 to the larvae of *S. frugiperda*, the adult longevity, oviposition stage duration, number of

egg laying, number of eggs per egg laying and egg stage duration were also similar for both treatments. However the total number of eggs was lower on genetically modified corn. The total biological life cycle (egg – adult) was longer for insects that fed on MON810, and the total viability was lower on this food source. It was observed that the net reproduction rate (R_0) and finite increase rate (λ) were also lower for insects that fed on MON810. The cannibalistic behavior of *S. frugiperda* occurred regardless of the food source (conventional corn or MON810); but this behavior was more pronounced when MON810 leaves were used as food source. The leaf area consumption by *S. frugiperda* was lower on MON810 and the insects had lower efficiency of conversion of digested (ECD) and higher metabolic cost than on conventional corn. Field experiments carried out with artificial and natural infestations of *S. frugiperda* showed that MON810 was very effective to reduce the population of this pest in different corn phenological stages. The studies on the interaction among MON810 vs *S. frugiperda* vs *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner, 1983) were carried out under laboratory conditions for five consecutive generations of both parasitoid and pest. It was not observed difference between both treatments for the parasitism, emergence, number of parasitoids, sexual ratio, and parasitoid longevity when *T. atopovirilia* was reared on eggs from females that fed on either MON810 or conventional corn. These data suggest that the nutritional quality of *S. frugiperda* eggs was similar between MON810 and conventional corn as food source, with no effect in the parasitism by *T. atopovirilia*. Field experiments showed that the distribution of *S. frugiperda* egg laying, according to the phenological stage and surface of the leaf, was similar between MON810 and conventional corn. The natural parasitism of *S. frugiperda* eggs by *Trichogramma* spp. was similar between MON810 and conventional corn, with the predominance of *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879), followed by *T. atopovirilia* in field conditions.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays*) é uma das mais importantes no contexto econômico e social no mundo, pois ocupa a segunda posição em termos de produção mundial (FAO, 2000).

No Brasil, o milho tem sido cultivado em aproximadamente 13 milhões de hectares, com produção de aproximadamente 36 milhões de toneladas por ano (FNP, 2002). O milho é um produto agrícola de grande utilização na alimentação animal e humana, constituindo-se em matéria prima de expressiva importância para o uso industrial. Todavia, dentre os fatores que podem comprometer o rendimento e a qualidade da produção tem-se a incidência de pragas, as quais podem determinar prejuízos à lavoura e à produção, com importante impacto econômico.

Dentre as pragas mais importantes no milho destaca-se a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), que em condições climáticas favoráveis aumenta sua população, destruindo folhas e cartucho, comprometendo a produção de grãos (Pencoe & Martin, 1981). No Brasil, as perdas são variáveis entre 34 e 40% (Carvalho, 1970; Cruz & Turpin, 1982; Carnevalli & Florcovski, 1995; Cruz et al., 1999). Segundo Cruz et al. (1999) as perdas estimadas em função das infestações de *S. frugiperda* no Brasil são da ordem de 400 milhões de dólares por ano.

O controle desta praga é normalmente feito com inseticidas, os quais nem sempre são eficientes (Cortez & Trujillo, 1994). Tal controle é dificultado pelo hábito da praga, que permanecendo dentro do cartucho das plantas, torna difícil o contato com os inseticidas; além disso com a aplicação de defensivos agrícolas, ocorre a redução de inimigos naturais, principalmente por produtos de largo espectro, favorecendo a ressurgência da lagarta (Gassen, 1996). Assim, é desejável a associação de táticas de controle de pragas, visando aspectos econômicos, porém, sobretudo poupando o meio ambiente de impactos negativos à flora e à fauna (Pedigo, 1989).

Com o advento da biotecnologia, foi desenvolvida uma nova tática de controle de pragas que consiste nas plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos. Através de apuradas técnicas de laboratório um gene de *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*) foi introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho geneticamente modificado, conferindo alto padrão de resistência da planta a algumas espécies de lepidópteros-praga (Armstrong, 1995). O gene introduzido codifica a expressão de proteínas *Bt*, com ação inseticida, efetiva no controle de lepidópteros como *S. frugiperda* (Lynch et al. 1999; Barry et al., 2000; Buntin et al., 2001; Huang et al., 2002). As lagartas ao se alimentarem do tecido foliar do milho geneticamente modificado ingerem esta proteína, que atua nas células epiteliais do tubo digestivo dos insetos. A proteína promove a ruptura osmótica destas células, determinando a morte dos insetos, antes que os mesmos consigam causar danos à cultura (Gill et al., 1992; Pietrantonio et al., 1993; Gill, 1995; Meyers et al. 1997).

A tecnologia do milho geneticamente modificado foi lançada comercialmente nos EUA em 1996, e vem sendo utilizado também em outros países como Canadá, Argentina, África do Sul, Espanha e França. Nestes países, o milho geneticamente modificado resistente a lepidópteros-praga foi plantado

em 8,3 milhões de hectares, representando 18% da área cultivada com culturas geneticamente modificadas (James, 2001).

Como as plantas são a base das relações tritróficas (planta – praga – inimigo natural) e possuem importante papel como fonte primária de alimento, poderão influenciar biologicamente no desenvolvimento do segundo e terceiro níveis tróficos (Hoy & Herzog, 1985; Shuler et al., 1999a). Neste caso, como os insetos herbívoros irão se alimentar de plantas geneticamente modificadas e, portanto, ingerir proteínas *Bt* é fundamental avaliar a interação planta - praga - inimigos naturais (van Emden, 1991; Shuler et al., 1999b).

Assim, a presente pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito do milho geneticamente modificado MON810 em *S. frugiperda*, bem como avaliar a interação tritrófica: milho MON810, *S. frugiperda* e o parasitóide de ovos *Trichogramma* spp..

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em milho convencional e em milho geneticamente modificado

2.1.1 Biologia de *S. frugiperda* em alimentos naturais convencionais

As características do substrato alimentar e as condições do ambiente podem interferir no desenvolvimento biológico dos insetos. Em laboratório, vários estudos têm demonstrado o efeito nutricional de substratos alimentares e da temperatura no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*.

Assim, em condições de laboratório e de campo Dew (1913) estudou o desenvolvimento biológico de *S. frugiperda* em folhas de milho e algodoeiro, à temperatura de 25°C. O autor observou que as posturas possuíam, em média, de 160 a 170 ovos, o período de incubação era de três dias, a fase larval teve uma duração de 14 dias, a fase de pupa de dez dias e o ciclo total foi completado em 30 dias. Em estudo similar, Fonseca (1943) obteve dados diferentes, quando comparados ao autor anteriormente citado. Desta forma, as lagartas de *S. frugiperda*, alimentando-se em milho apresentaram períodos para as fases larval e pupal de 20 a 30 dias e de dez a 12 dias, respectivamente. Provavelmente, tais

diferenças se devem às diferentes populações de praga e variações das condições de ambiente no qual o inseto foi estudado.

Também em folhas de milho, a 27°C e UR de 77%, Velez & Sifuentes (1967) observaram que o período de incubação de *S. frugiperda* foi de quatro dias e a fase larval foi variável entre 21 e 22 dias. A longevidade da fêmea foi de 15 dias e o período de pré-oviposição foi de cinco dias, sendo o ciclo biológico de 32 dias.

Lucchini (1977) estudou a biologia de *S. frugiperda* em milho na temperatura de 25°C e UR de 70%. O autor observou dados similares àqueles obtidos por Dew (1913), como no período de incubação de três dias e uma fase larval de 14,7 dias. Obteve uma duração para a fase de pupa de 11,8 e 10,2 dias para machos e fêmeas, respectivamente. O ciclo total ocorreu em 31,3 e 30,2 dias, para machos e fêmeas, respectivamente. As posturas apresentaram 205,8 ovos, em média, com uma viabilidade de 51,2%.

Avaliando o efeito de alguns substratos naturais no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, à temperatura de 25°C, Pitre & Hogg (1983) observaram que lagartas alimentadas em folhas de algodoeiro e soja apresentaram desenvolvimento mais longo e as pupas apresentaram menor peso do que aquelas alimentadas em folhas de milho.

A partir de estudos efetuados com dietas artificiais e substratos naturais, observou-se uma variação de quatro a sete ínstaes em lagartas de *S. frugiperda*, caracterizando desta forma a relação direta entre a qualidade nutricional do alimento e o desenvolvimento biológico do inseto (Lucchini, 1977; Lordello et al., 1980; Pencoe & Martin, 1981; Alvarez & Sanches, 1983; Pitre & Hogg, 1983; Nalim, 1991). Como é conhecido, o número de ínstaes depende não só da nutrição, mas também da temperatura, sexo, genética e forma de criação (Parra & Haddad, 1989).

Wiseman et al. (1981) realizaram estudos com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes genótipos de milho no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, em laboratório a 29,5°C e UR de 85 ± 2%. Observou-se que em genótipo resistente ('MpSWCB-4') as lagartas consumiram após oito dias, 21,5 cm² de área foliar e pesaram 77,5 mg, enquanto que no genótipo suscetível ('Cacahuacintle') ocorreu maior consumo (72,4 cm²) e registrou-se maior peso das lagartas (294,2 mg). Vendramim e Fancelli (1988) em estudo similar observaram sensível diferença na taxa alimentar de *S. frugiperda* e no peso das pupas. Ainda, Melo & Silva (1987) em estudos de laboratório, a 23°C e UR de 75 ± 10%, com a mesma espécie, também observaram que houve influência de genótipos de milho no desenvolvimento biológico do lepidóptero, sendo que o híbrido AG-28 determinou maior número de ínstaes, maior peso de pupas e alongamento do período pupal. Em geral, o aumento no número de ínstaes representa uma inadequação nutricional do alimento.

A temperatura também pode afetar o desenvolvimento biológico de insetos. Combs Junior & Valerio (1980) estudaram o efeito de algumas gramíneas no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, em diferentes temperaturas. As diferentes gramíneas propiciaram desenvolvimento semelhante de *S. frugiperda*; entretanto, a temperatura de 25°C propiciou o melhor desenvolvimento do inseto. Segundo Ferraz (1982) a duração da fase larval de *S. frugiperda*, em folha de milho, foi decrescente em função da elevação térmica, na faixa de 20 a 35°C. A duração da fase de ovo, pré-pupa, pupa e o peso das lagartas no máximo desenvolvimento foram inversamente proporcionais à elevação da temperatura, na faixa térmica citada. O número de ínstaes foi maior na menor temperatura (20°C), sendo a viabilidade das fases de ovo, lagarta e pupa decrescente com a elevação da temperatura. Na temperatura de 30°C observou-se redução no número de posturas e viabilidade dos ovos.

2.1.2 Biologia de lepidópteros (Noctuidae e Crambidae) em plantas geneticamente modificadas

Estudos de laboratório utilizando plantas geneticamente modificadas (resistente a insetos) têm sido realizados, indicando que as proteínas *Bt*, expressas nos tecidos vegetais das plantas, interferem no desenvolvimento biológico dos insetos.

Williams et al. (1997) estudaram os efeitos de milhos geneticamente modificados, que expressam a proteína Cry1Ab, comparativamente ao milho convencional, no desenvolvimento larval e sobrevivência de *S. frugiperda* e *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), à temperatura de 28°C. Lagartas recém-eclodidas foram alimentadas com tecido foliar liofilizado de milho geneticamente modificado, que expressam diferentes proteínas *Bt*, e milho convencional, incorporados à dieta artificial. Observou-se menor sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* que se alimentaram na dieta com tecido liofilizado da folha e palha de espigas de milho modificado. A sobrevivência foi de 67% em dieta à base de tecido de milho geneticamente modificado e de 89% em dieta à base de milho convencional. Da mesma forma, o peso das lagartas foi menor quando alimentadas com milho modificado. Para *D. saccharalis*, alguns destes milhos determinaram 100% de mortalidade. As lagartas de *D. saccharalis* sobreviventes, em outros milhos modificados, apresentaram peso de lagarta inferior em relação àquelas que se alimentaram em dieta à base de milho convencional.

Lagartas de *Helicoverpa zea* (Bod., 1850) alimentadas em flores de algodoeiro resistente a insetos (com expressão da proteína Cry1Ac) tiveram seu peso reduzido. O peso médio das lagartas que se alimentaram de flores de algodoeiro convencional foi duas vezes superior ao daquelas alimentadas com flores de plantas resistentes (Meyers et al., 1997).

Bioensaios foram realizados por Williams et al. (1998) com o objetivo de avaliar a resistência de milhos geneticamente modificados, que expressam a proteína Cry1Ab, a alguns lepidópteros pragas do milho. Dentre as pragas estudadas, lagartas de *S. frugiperda* apresentaram menor sobrevivência e alongamento do desenvolvimento larval, em dietas contendo palha e estilo-estigma liofilizados provenientes de espigas do milho modificado.

Utilizando folhas de milho doce resistente a insetos (que expressa a proteína Cry1Ab), Lynch et al. (1999) avaliaram o efeito no desenvolvimento biológico, mortalidade e danos de *S. frugiperda* e *H. zea*. Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com estilo-estigma apresentaram, comparativamente ao milho convencional, baixos índices de sobrevivência, independente da idade da lagarta. O peso de lagartas de *S. frugiperda* no milho resistente apresentou significativa redução. As lagartas recém-eclodidas e de três dias de idade de *H. zea* morreram após quatro dias de alimentação. As lagartas, desta mesma espécie, de seis dias de idade após o mesmo período de alimentação, em folhas do milho resistente, sobreviveram, porém efetuaram menor dano às folhas utilizadas como substrato alimentar, e apresentaram menor peso comparativamente aos insetos que se alimentaram de milho convencional. A sobrevivência e o peso de lagartas *H. zea* foram significativamente afetados pelo consumo de estilo-estigma do milho resistente.

Giles et al. (2000) avaliaram o efeito de grãos de milho geneticamente modificado (que expressam as proteínas Cry1Ab e Cry1Ac e Cry9C) a alguns

parâmetros biológicos de *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813), à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de 70%. Os autores observaram que os insetos alimentados em milho modificado, apresentaram menor sobrevivência e menor peso de adultos, porém não houve qualquer efeito sobre a razão sexual deste piralídeo. Estudo semelhante foi efetuado por Sedlacek et al. (2001) para as espécies *P. interpunctella* e *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819), em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR 60%, também utilizando grãos de milhos geneticamente modificados (BT11 e MON810) que expressam a proteína Cry1Ab. Os autores avaliaram o efeito do grão de milho quanto à emergência, fecundidade e capacidade de oviposição dos insetos. Os resultados demonstraram redução na emergência de *P. interpunctella* da ordem de 77,3 e 46,7% para os milhos BT11 e MON810, comparados aos respectivos milhos convencionais. Para *S. cerealella* também a emergência de adultos foi significativamente menor nos milhos modificados (71,6 e 68,1%, respectivamente para o milho BT11 e MON810). A fecundidade de *P. interpunctella* foi reduzida para 66,7 e 55,8%, respectivamente no milho BT11 e MON810. Os grãos de milho modificado não afetaram a fecundidade de *S. cerealella*, porém prolongaram o ciclo biológico (ovo-adulto) desta espécie (aproximadamente 2 dias). *P. interpunctella* apresentou um alongamento no ciclo biológico, em milho geneticamente modificado, em torno de nove dias.

Em estudos de campo Buntin et al. (2001) avaliaram a eficiência dos milhos geneticamente modificados MON810 e BT11 (proteína Cry1Ab) no controle de *S. frugiperda* e *H. zea*. Os autores observaram a infestação e desenvolvimento de lagartas em espigas nestes milhos, e também no milho convencional. Observou-se, porém, atraso no desenvolvimento das lagartas infestantes do milho modificado. Enquanto as lagartas, de ambas as espécies, no milho convencional apresentaram melhor desenvolvimento (tamanho

correspondente ao quinto e sexto ínstaes), aquelas que se alimentaram do milho modificado estavam com tamanho menor (correspondente ao terceiro e quarto ínstaes), demonstrando-se assim o efeito deletério da proteína Cry1Ab no desenvolvimento biológico destes lepidópteros.

2.1.3 Consumo foliar e nutrição quantitativa de *Spodoptera* spp.

Os fatores nutricionais estão diretamente relacionados à fisiologia, comportamento, ecologia e evolução dos insetos. Desta forma, a qualidade e a quantidade do alimento consumido atuam no desenvolvimento biológico dos insetos, incluindo crescimento, peso de pupa, número de ovos, viabilidade, etc. (Scriber & Slansky Junior, 1981; Slansky Junior, 1982; Parra, 1991).

Waldbauer (1968) propôs e padronizou os índices de medição relativos ao consumo e utilização de alimentos (nutrição quantitativa) por fitófagos. Scriber & Slansky Junior (1981) revisaram os índices padronizados por aquele autor, os quais são utilizados em estudos desta natureza, propondo modificações para estudos de nutrição e ecologia nutricional.

Em estudos de biologia, visando avaliar o consumo e utilização de alimento por *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) em diferentes hospedeiros naturais, Duodu & Biney (1981) observaram que alguns hospedeiros apresentaram inadequação nutricional, determinando elevada digestibilidade aparente (AD) e baixa eficiência de conversão do digerido (ECD).

Com o objetivo de avaliar o comportamento alimentar de *S. frugiperda* em alguns hospedeiros naturais (milho, trigo e sorgo), Crócomo & Parra (1985) efetuaram estudos de laboratório, avaliando a utilização do alimento, bem como

a influência dos mesmos em parâmetros biológicos. Os autores observaram que o lepidóptero ingeriu igualmente os três substratos nos três primeiros dias. A partir daí, houve maior consumo de sorgo e menor de trigo, sendo que os valores para milho foram intermediários não diferindo de trigo até o décimo segundo dia. Posteriormente, ocorreu maior consumo no substrato milho. As eficiências de conversão do alimento digerido (ECI) e ECD foram variáveis em função do substrato. O valor médio para AD foi maior para o trigo, sendo que o maior valor de custo metabólico foi observado para o milho. As lagartas alimentadas com folhas de trigo e sorgo utilizaram o alimento de forma similar e com melhor eficiência do que aquelas alimentadas em milho. O trigo foi o melhor alimento para as lagartas de *S. frugiperda*, o sorgo intermediário, e o milho o que apresentou as piores características para a alimentação dos insetos, pois foi o substrato mais ingerido, e determinou maior custo metabólico e menor eficiência de conversão, embora a digestibilidade tenha sido levemente superior ao sorgo. A área foliar consumida pelas lagartas foi de 241 cm², 66 cm² e 139 cm², respectivamente para milho, trigo e sorgo. Desta forma, tem-se que o milho foi a planta mais danificada, dentre as três estudadas. Lordello et al. (1980) utilizando diferentes variedades de sorgo observaram que o consumo foliar de *S. frugiperda* variou de 84 a 192 cm², durante a fase larval.

Assim, os resultados apresentados demonstram a importância da qualidade do alimento para a manutenção biológica dos insetos. Estudos visando avaliar o efeito da alimentação na biologia de *S. frugiperda* foram realizados por Nalim (1991). Duas dietas artificiais, uma à base de levedura de cerveja e feijão e a outra à base de levedura, germe-de-trigo e feijão, comparadas à dieta natural de milho, foram testadas na criação de *S. frugiperda*. Fazendo-se uso dos parâmetros quantitativos concluiu-se que a dieta à base de germe-de-trigo foi a mais adequada para a criação do inseto, reduzindo a duração da fase

larval, a porcentagem de insetos com sete ínstaes e dando origem a pupas mais pesadas, além de proporcionar maior uniformidade no desenvolvimento da população. A dieta de germe-de-trigo apresentou maiores AD, ECI e ECD, havendo menor custo metabólico e proporcionando menor consumo de alimento e maior taxa de crescimento e de conversão.

Como a temperatura também pode interferir no desenvolvimento biológico dos insetos, Souza et al. (2001) avaliaram a eficiência da utilização e consumo de dieta artificial para alguns lepidópteros, entre eles a espécie *S. frugiperda*, em duas diferentes temperaturas (25°C e 30°C). Os autores observaram que *S. frugiperda* teve melhor desenvolvimento na condição térmica de 30°C, pois esta espécie apresentou maior peso no máximo desenvolvimento, maior ganho de peso, maior razão de crescimento, maior ECI e ECD e menor custo metabólico. Desta forma, os autores recomendaram, com base nos índices nutricionais, determinados por uma geração, a utilização da temperatura mais elevada para manutenção de criações de *S. frugiperda*.

2.1.4 Canibalismo em lepidópteros (Noctuidae)

Em alguns lepidópteros, como *S. frugiperda*, o canibalismo é um comportamento típico da espécie (Escalante, 1974; Raffa, 1987).

O canibalismo, em populações naturais, pode estar relacionado à alimentação, densidade populacional, disponibilidade de indivíduos vulneráveis e estresse. Além desses, outros fatores provavelmente estejam relacionados a este comportamento, uma vez que o mesmo está presente em muitas populações, podendo influenciar a estrutura populacional, além da

biologia e competição. O comportamento canibal geralmente tem base genética, porém sendo controlado ou induzido pelo ambiente (Fox, 1975a). Desta forma, Fox (1975b) e Polis (1981) comentaram que o canibalismo não deve ser considerado uma anomalia comportamental de populações estressadas e limitadas a confinamentos, mas sim uma resposta natural relativa a vários estímulos ambientais. Segundo Fox (1975b) o sucesso da continuidade de uma população, por sucessivas gerações, não está limitado diretamente pelo alimento, mas também por algum mecanismo intermediário que preserve a qualidade e a sobrevivência dos indivíduos.

Em ensaios de laboratório Joyner & Gould (1985) avaliaram o desenvolvimento de *H. zea* em dieta artificial, misturando a este substrato alimentar lagartas desta mesma espécie. Observou-se que os insetos alimentados com esta dieta apresentaram desenvolvimento mais rápido, maior índice de sobrevivência e maior peso de pupas, comparativamente aos insetos alimentados apenas com a dieta padrão.

Raffa (1987) relatou que *S. frugiperda* apresentou maior taxa de canibalismo quando se alimentou de feijoeiro em relação ao milho, demonstrando desta forma a influência do alimento no comportamento canibal deste noctuídeo.

Nalim (1991) estudando a biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *S. frugiperda* em duas dietas artificiais concluiu que ocorre canibalismo em lagartas criadas em dietas naturais e artificiais e que o canibalismo é inversamente correlacionado com a qualidade nutricional do alimento. Foi observado que o substrato natural, folhas de milho, proporcionou maior canibalismo, comparativamente às dietas. A viabilidade das lagartas em relação ao canibalismo, utilizando-se de milho como substrato alimentar, foi de

50, 46 e 30%, respectivamente para as densidades de duas, três e quatro lagartas por recipiente.

Segundo Joyner & Gould (1987) a utilização de tecidos animais é uma forma complementar de nutrição, especialmente proteínas, em alguns estágios de desenvolvimento de populações de insetos. Segundo estes autores, este processo é uma característica natural para a aquisição de nutrientes necessários para o crescimento, sobrevivência e reprodução da espécie. Polis (1981) relata haver evidências de que o fenótipo canibal é induzido por fatores relacionados com a dieta do animal, aumentando a estabilidade e diminuindo a probabilidade de extinção da espécie.

2.2 Aspectos ecológicos de *S. frugiperda*

S. frugiperda é uma espécie com ampla distribuição nas Américas, ocorrendo preferencialmente em regiões de clima quente (Bertels, 1970; Pedigo, 1989).

No Brasil, este lepidóptero é popularmente conhecido como “lagarta-do-cartucho-do-milho”, e possuem o hábito de infestar e danificar as folhas jovens da cultura do milho (*Zea mays*). *S. frugiperda* é freqüentemente observada em regiões de cultivo de milho e arroz (*Oryza sativa*), para os quais é uma praga de grande importância econômica (Carvalho, 1970; Bertels, 1970; Cruz, 1982). No milho, *S. frugiperda* é considerada praga chave (Cruz et al., 1982; Cruz et al., 1999).

Apesar de preferir infestar gramíneas, *S. frugiperda* é um inseto polífago, infestando plantas como: cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), algodoeiro

(*Gossypium hirsutum*), amendoim (*Arachis hypogaea*), sorgo (*Sorghum bicolor*) e, principalmente, o milho (Barfield et al., 1980; Cruz et al., 1982; Pitre et al., 1983; Sifontes et al., 1988; Pedigo, 1989; Cruz et al., 1999).

As infestações iniciais de *S. frugiperda* ocorrem em gramíneas como milho, pastagens e plantas daninhas, ou ainda outras plantas distintas deste grupo como alfafa (*Medicago sativa*), amendoim e algodoeiro (Hunt, 1980). As infestações freqüentemente se concentram nas folhas jovens e a idade da planta atua como importante fator na distribuição e desenvolvimento das lagartas (Harrison, 1984; Hoy & Shelton, 1987).

No Brasil, tem-se observado lagartas de *S. frugiperda* se desenvolvendo em folhas do cartucho, além de apresentarem o hábito, em algumas regiões, de perfurarem a base da planta e infestar e danificar a espiga (Parra et al., 1995; Gassen, 1996). Ao longo do desenvolvimento e maturação das plantas, há variações morfológicas e fisiológicas, as quais podem determinar maior atratividade dos adultos ou serem mais adequadas ao estabelecimento e desenvolvimento larval do inseto. Levantamentos efetuados em soja (*Glycine max*) por Pansera-de-Araújo et al. (1999) mostraram que a distribuição de ovos para algumas espécies de Noctuidae diferem com relação à região da planta e espécie de inseto. *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) e *Spodoptera latifascia* (Walker, 1856) preferiram ovipositar na região média da planta, enquanto que *Rachiplusia nu* (Guen., 1852) preferiu a região superior e *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) a região inferior. De acordo com Pitre et al. (1983) a distribuição de posturas de *S. frugiperda*, em relação à região da planta, estágio fenológico e espécie de hospedeiro, tem implicações na sobrevivência da prole, uma vez que o ciclo biológico deste inseto pode ser alterado em função do estágio fenológico e da qualidade nutricional do hospedeiro.

2.2.1 Comportamento de oviposição de *S. frugiperda* e distribuição da postura em plantas convencionais

O comportamento de oviposição e a distribuição de posturas de *S. frugiperda* estão relacionados ao estágio fenológico e características da planta hospedeira (Ali et al., 1989; Gutiérrez-Martínez et al., 1989; Meneses et al., 1991; Labatte, 1993; Pashley et al., 1995; Beserra, 2000).

A dinâmica de *S. frugiperda* na cultura do milho foi estudada por Gutiérrez-Martínez et al. (1989). Tais estudos indicaram que as primeiras infestações de *S. frugiperda*, em milho, são observadas nos estádios iniciais da cultura, logo após a emergência das plantas. Adultos desta espécie, provenientes de cultivos anteriores ou vizinhos e de outras plantas hospedeiras, fazem as primeiras oviposições nas plantas. A partir daí a população da praga tendeu a aumentar e o decréscimo populacional ocorreu cerca de dois meses após a emergência das plantas. Em estudos similares realizados por Ali et al. (1989), na cultura do algodão e por Sifontes et al. (1988) e Meneses et al. (1991), na cultura do arroz, revelaram que o padrão de oviposição de *S. frugiperda* está relacionado ao estágio fenológico da planta hospedeira. As posturas deste lepidóptero podem ser encontradas nas regiões inferiores, médias e superiores das plantas, em diferentes partes de estruturas vegetativas e de frutificação.

Teste de preferência, realizado por Pitre et al. (1983) em condições de telado, com o objetivo de estudar o comportamento de oviposição de *S. frugiperda* em diferentes plantas hospedeiras e estádios fenológicos, indicou que houve maior número de posturas e de ovos em gramíneas e nas plantas mais velhas. A maior oviposição em plantas mais velhas foi devido à maior cobertura

vegetal proporcionado pelas mesmas nesta idade, levando conseqüentemente à maior permanência das fêmeas sobre as plantas, devido à maior área superficial para oviposição e, portanto, havendo aumento do número de oviposições nesta condição.

Estudando o comportamento de oviposição de *S. frugiperda* em arroz, Meneses et al. (1991) observaram que a preferência de oviposição do lepidóptero está relacionada à região e superfície foliar, com preferência pelas regiões medianas e apicais e superfície inferior. As posturas apresentaram-se com mais de uma camada de ovos, comumente, duas e três, e em média com 385,6 ovos. Sifontes et al. (1988) obtiveram dados similares a estes autores, também na cultura do arroz, pois observaram que *S. frugiperda* efetuou mais posturas na superfície inferior e região mediana das folhas e que, à medida que aumentava a idade da planta, ocorria maior densidade de escamas, número de camadas e de ovos.

Labatte (1993) descreveu que a distribuição de lagartas de *S. frugiperda* nas folhas, permanece constante durante todo o estágio de desenvolvimento vegetativo do milho até o pendão tornar-se visível. Após o pendramento, muitas lagartas deslocam-se para as folhas mais baixas e para a espiga, onde encontram abrigo por serem áreas mais protegidas, o que dificulta a implementação de medidas de controle.

Beserra (2000) estudou a distribuição de posturas de *S. frugiperda* em milho em diferentes estádios fenológicos da cultura. O autor observou que o local das posturas de *S. frugiperda* na planta foi variável em função da fenologia da mesma. A fenologia da planta também influenciou o número de posturas, sendo que ocorreu maior concentração de posturas durante o estágio vegetativo da planta. *S. frugiperda* não apresentou um padrão de postura (tamanho, número

de camadas e presença de escamas) em função dos diferentes estádios fenológico estudados.

2.2.2 Comportamento de oviposição de lepidópteros e distribuição da postura em plantas geneticamente modificadas

Orr & Landis (1997) estudaram, em ensaio de campo, a distribuição de massas de ovos de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796), em milho geneticamente modificado, que expressa a proteína Cry1Ab, em comparação ao híbrido convencional. Os autores verificaram que o número e tamanho de massas de ovos não diferiram entre os tratamentos, indicando não haver interferência do milho geneticamente modificado no comportamento de oviposição deste crambídeo.

Liu et al. (2002) avaliaram o comportamento de oviposição de fêmeas de *Pectinophora gossypiella* (Saund., 1844), oriundas de populações de laboratório resistentes e suscetíveis à proteína Cry1Ac, em relação ao algodoeiro geneticamente modificado, que expressa esta mesma proteína. Os autores avaliaram o número de posturas nas “maçãs” de diferentes diâmetros, no algodoeiro geneticamente modificado e no convencional, da mesma variedade (DP50). No testes de livre escolha, em telado e laboratório, observou-se que as mariposas efetuaram posturas em plantas com maior número de maçãs. As fêmeas preferiram ovipositar nas maçãs mais jovens e com maiores diâmetros, porém independentemente da cultivar (convencional ou modificada). Os autores concluíram que o comportamento de oviposição deste lepidóptero é

influenciado pela fenologia da planta, sendo, entretanto, independente do fator de expressão da proteína Cry1Ac nas “maçãs”.

Hellmich et al. (1999) avaliaram o comportamento de oviposição de fêmeas de *O. nubilalis* em milhos resistentes que expressam a proteína Cry1Ab (MON810, MON802, BT11, BT176), a proteína Cry1Ac (DTB418) e a proteína Cry9C (CBH351), em relação aos respectivos híbridos convencionais. Os autores conduziram o estudo em cinco ensaios em condições de telado e dois em condições de campo, realizando avaliações na fase vegetativa e reprodutiva do milho. Os autores observaram que em um dos estudos realizados em telado ocorreu maior oviposição no milho resistente, comparativamente ao milho convencional. Nos demais estudos (telado e campo) evidenciou-se que a oviposição ocorreu de forma similar nos dois tratamentos, independentemente do tipo de milho (convencional ou resistente). Os autores relataram que, provavelmente, fatores relacionados ao sombreamento ou clima devem ter influenciado a maior oviposição no milho resistente em um dos estudos realizados em telado. Em outros estudos, ocorreu similaridade quanto ao comportamento de oviposição de *O. nubilalis* nos milhos convencionais e resistentes.

Pilcher & Rice (2001) realizaram estudos de campo comparando os milhos geneticamente modificados BT176 e BT11 (proteína Cry1Ab) e respectivos híbridos convencionais, quanto à oviposição de *O. nubilalis* ao longo do ciclo da cultura, em distintas localidades e por três safras consecutivas. As observações foram efetuadas para a primeira e segunda gerações de *O. nubilalis*. A densidade de ovos, em todos locais, no milho modificado e convencional foi semelhante. Houve diferenças quanto a densidade de ovos ao longo das diferentes datas de plantio, porém não entre o milho modificado e convencional. Desta forma, os estudos mostraram que o comportamento de oviposição dos

insetos não foi alterado em relação às plantas modificadas, pois padrões similares de oviposição foram observados nas plantas convencionais.

2.3 Efeito da planta geneticamente modificada em infestações de lepidópteros-praga na cultura do milho

Com o advento da biotecnologia, genes que codificam proteínas com propriedades inseticidas foram isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*). Estes genes foram modificados para expressarem adequadamente em plantas, para o controle de pragas alvo em culturas como tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Fishhoff et al., 1987), algodoeiro (Perlak et al., 1990), batata (*Solanum tuberosum* L.) (Perlak et al., 1993) e milho (Koziel et al., 1993 e Armstrong et al., 1995). O milho geneticamente modificado, resistente a insetos, foi originalmente desenvolvido para o controle de *O. nubilalis*, uma importante praga do colmo do milho nos EUA. As proteínas *Bt* são eficientes, principalmente, no controle de espécies das ordens Lepidoptera e Coleoptera. Em plantas geneticamente modificadas, as lagartas ao se alimentarem do tecido foliar das mesmas, ingerem a proteína *Bt* que atua nas células epiteliais do tubo digestivo das mesmas (Meyers et al. 1997). A proteína *Bt* promove a ruptura osmótica irreversível das células e causa a morte dos insetos, antes que os mesmos consigam causar danos econômicos à cultura (Gill et al., 1992; Pietrantonio et al., 1993; Gill, 1995).

Koziel et al. (1993) obtiveram sucesso na inserção do gene *cry1Ab* em milho, sendo a proteína Cry1Ab expressa em altas concentrações nos tecidos da planta. Os autores, em testes de campo, observaram eficiência no controle de *O.*

nubilalis, tanto em relação ao consumo de folhas, quanto à perfuração do colmo da planta.

Armstrong et al. (1995) avaliando o potencial de várias linhagens de milho geneticamente modificados, no controle de *O. nubilalis*, verificaram excelentes resultados quanto à resistência das plantas testadas a esta praga, levando à conclusão de que plantas geneticamente modificadas devem ser mais um componente de manejo integrado de pragas (MIP).

A resistência de diversos híbridos de milho modificado, contendo a proteína Cry1Ab, às lagartas de *S. frugiperda* e *Diatraea grandiosella* (Dyar, 1911) foi avaliada em bioensaios de laboratório e testes de campo por Williams et al. (1997). Em laboratório, utilizou-se o tecido vegetal liofilizado adicionado à dieta artificial para avaliar o efeito da proteína Bt nos lepidópteros. Observaram baixa sobrevivência das duas espécies em dieta com tecido liofilizado dos híbridos de milho modificado. Em campo, os híbridos geneticamente modificados apresentaram menores danos. Os estudos demonstraram a ação tóxica da proteína Cry1Ab para *S. frugiperda* e *D. grandiosella*.

Lynch et al. (1999) em teste de campo com o milho doce BT11 (proteína Cry1Ab), confirmaram os efeitos adversos da proteína presente nas folhas e espigas no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda* e de *H. zea*. Os dados de campo indicaram adequada proteção de folhas e espigas aos danos destas pragas no milho BT11.

Barry et al. (2000) efetuaram testes de campo, com milhos resistentes, que expressavam as proteínas Cry1Ab e Cry1Ac, com o objetivo de avaliar os efeitos dos mesmos em populações de *O. nubilalis* e *D. grandiosella*. As plantas resistentes apresentaram significativa redução de danos nas folhas e nos colmos, em relação ao milho convencional.

Buntin et al. (2001) avaliaram a eficácia dos milhos MON810 e BT11, que expressam a proteína Cry1Ab, no controle de *S. frugiperda* e *H. zea* na safra de 1998. Ambos os milhos consistentemente reduziram as infestações e danos nos cartuchos e nas espigas das plantas, respectivamente para *S. frugiperda* e *H. zea*. Os autores observaram, no entanto, que apesar da significativa redução na infestação dos lepidópteros, lagartas de ambas as espécies se estabeleceram em várias espigas do milho modificado, embora tenham se desenvolvido mais lentamente e causando menor dano, em relação ao milho convencional. Os autores concluíram que os milhos MON810 e BT11 foram efetivos em evitar significativas perdas na produtividade devido ao ataque de ambas as pragas.

No Brasil, Martinelli (2001) avaliou o padrão de resistência dos milhos geneticamente modificados BT11 e ICP4, que expressam proteínas *Bt*, para *S. frugiperda* e *H. zea*, em condições de campo. De acordo com os dados obtidos foi possível observar danos em folhas do milho modificado, porém em nível reduzido comparativamente ao milho convencional. Os danos nas folhas ocorreram mais precocemente no milho convencional do que nos milhos BT11 e ICP4, sendo que nestes a progressão da intensidade de dano foi acentuadamente menor que nos híbridos convencionais. O autor concluiu que ambos os milhos BT11 e ICP4 foram eficientes na proteção da planta em relação ao dano de *S. frugiperda* e de *H. zea*.

Huang et. al. (2002) avaliaram a performance de diversos milhos geneticamente modificados, que expressam proteínas *Bt*, no controle de *O. nubilalis* em condições de telado. Os autores avaliaram o padrão de resistência dos milhos geneticamente modificados DBT418 e DBT418 (que expressam a proteína Cry1Ac) e MON810, BT11 e BT176 (que expressam a proteína Cry1Ab), no controle deste crambídeo, utilizando populações selecionadas em laboratório para a resistência à formulação comercial *Bt* (Dipel ES). Os tratamentos foram

compostos dos milhos modificados e os respectivos híbridos convencionais. A infestação artificial de *O. nubilalis* foi efetuada nos estádios de 8 a 11 folhas, colocando-se 30 lagartas recém-eclodidas no cartucho das plantas. Os resultados indicaram que os milhos geneticamente modificados apresentaram diferentes padrões de resistência quanto ao dano nas folhas e colmo, bem com na sobrevivência das lagartas. Os milhos MON810 e BT11 mostram-se mais consistentes quanto ao padrão de resistência, protegendo as folhas e colmos das plantas e determinando baixíssima sobrevivência dos insetos, inclusive da população resistente ao Dipel ES.

Ensaios de campo foram conduzidos em 1997 e 1998 para avaliar a eficiência dos milhos MON810, MON802, BT11 e BT176 (proteína Cry1Ab), DBT418 (proteína Cry1Ac) e CHB351 (proteína Cry9c) no controle de lagartas de *O. nubilalis* no terceiro, quarto e quinto ínstares, em diferentes estádios fenológicos do milho (Walker et al. 2000). Infestações artificiais foram efetuadas colocando-se manualmente duas lagartas dos diferentes ínstares em distintos estádios fenológicos da planta (V8, V12, V16, R1, R3, R4, R5 e R6). Os resultados indicaram que os distintos milhos apresentaram diferentes padrões de proteção da planta às infestações e danos da praga. Os milhos MON810, MON802, BT11 e CHB351 foram eficientes no controle das lagartas, em todos os ínstares. O milho BT176 foi eficiente nos estádios fenológicos V12 e V16, o mesmo não ocorrendo nos estádios iniciais (V5 e V6) para lagartas de quarto instar. O milho CHB351 não apresentou eficiência no controle das lagartas tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva da cultura. Os autores concluíram que a expressão da proteína ao longo do desenvolvimento fenológico da planta pode determinar maior ou menor controle da praga.

Híbridos de milho doce geneticamente modificados como o milho BT11 (proteína Cry1Ab), foram testados, em campo, para a avaliação da eficiência no

controle de *O. nubilalis*, *H. zea* e *S. frugiperda*. Os dados obtidos indicaram que o milho BT11 proporcionou consistente padrão de resistência, independente do complexo de pragas, densidade da praga e localização geográfica (Burkness et al., 2001; Burkness et al., 2002).

2.4 Descrição geral da ocorrência de inimigos naturais em milho, com ênfase aos parasitóides de ovos de *S. frugiperda*

Na cultura do milho há uma grande diversidade de inimigos naturais, incluindo parasitóides, predadores e patógenos, que controlam *S. frugiperda* em diferentes estágios biológicos da praga (Ashley, 1979; Patel & Habib, 1986; Pair et al., 1986).

No grupo dos parasitóides, Ashley (1979) relatou que há 53 espécies, 43 gêneros e 19 famílias que utilizam *S. frugiperda* como hospedeiro. Nas Américas, as famílias Braconidae, Ichneumonidae e Tachinidae, englobam 16, 19, e 47% dos gêneros, respectivamente (Silva et al., 1997).

Com relação aos parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma*, estes têm ampla ocorrência no mundo, em uma diversidade de culturas e hospedeiros, preferencialmente, da ordem Lepidoptera, incluindo um grande número de pragas de importância agrícola (Hassan, 1994 e 1997). A partir de observações feitas em plantios de milho constatou-se a presença de espécies de *Trichogramma* parasitando ovos das duas mais importantes pragas agrícolas da cultura, ou seja *H. zea* (Neil & Specht, 1990; Sá, 1991; Tironi & Ciociola, 1994; Kazmer & Luck, 1995) e *S. frugiperda* (Waddill & Whitcomb, 1982; García & Sifontes, 1987;

Toonders & Sánchez, 1987; Rueda & Victoria, 1993; Alvarez & Roa, 1995; Beserra, 2000).

Dentre as espécies de *Trichogramma* encontradas na América do Sul e que parasitam ovos de *S. frugiperda* estão referidas no Brasil, *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Zucchi & Monteiro, 1997).

Cortez & Trujillo (1994) constataram parasitóides de ovos de *S. frugiperda*, em milho, pertencentes às famílias Mymaridae e Trichogrammatidae. García & Sifuentes (1987) relataram *Telenomus* sp. (Hymenoptera: Scelionidae) parasitando ovos deste mesmo lepidóptero.

No Brasil, Sá (1991) observou que o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *T. pretiosum* foi de 0,06 a 98%, onde estas porcentagens variaram em função das características da postura (camada de ovos e presença de escamas). Hoffmann et al. (1995) avaliaram o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma ostrinae* (Pang et Chen), e encontraram uma porcentagem média de ovos parasitados e de adultos emergidos, da ordem de 8% e 98%, respectivamente.

Em estudos realizados em algodoeiro, Greenberg et al. (1998), através de infestação artificial com posturas de *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808), seguida da liberação de *T. pretiosum* e *Trichogramma minutum* (Riley, 1871), observaram parasitismos de 36,8% e 32,5%, respectivamente.

Rueda & Victoria (1993) através da coleta de ovos de *S. frugiperda* na cultura do milho relataram que 42% dos mesmos estavam parasitados por *T. atopovirilia*, sendo que o parasitismo foi decrescente em função do desenvolvimento fenológico da planta.

No Brasil, Beserra (2000), em condições de campo, observou que o parasitismo natural de *S. frugiperda* por *Trichogramma* spp. foi baixo durante todo o ciclo vegetativo da cultura de milho. Apenas duas espécies foram encontradas parasitando ovos deste lepidóptero. *T. pretiosum* foi a espécie mais abundante, representando 93,8% dos parasitóides encontrados sendo que *T. atopovirilia* representou 2,1%.

2.4.1 Abordagem sobre interação tritrófica: planta geneticamente modificada, pragas e parasitóides

No ecossistema agrícola, as culturas não são simplesmente fontes de alimento para artrópodes herbívoros, mas também se constituem em habitat para inimigos naturais (parasitóides e predadores) que se alimentam de pragas, e constituem-se em importantes agentes de controle biológico natural das mesmas. Ecologicamente, esta hierarquia é denominada “sistema tritrófico”: as plantas representam o primeiro nível trófico, a praga (neste contexto denominado herbívoro, hospedeiro ou presa) o segundo nível trófico e o inimigo natural o terceiro nível trófico (De Moraes, 2000). A planta tem importante papel neste contexto por ser fonte primária de alimento, podendo influenciar biologicamente no desenvolvimento do segundo e terceiro níveis tróficos (Price et al., 1980; Shuler, 1999b).

As plantas geneticamente modificadas, que expressam proteínas da bactéria *B. thuringiensis* (*Bt*), promovem alta resistência para insetos das ordens Lepidoptera e Coleoptera (Peferoen, 1997). Os promotores constitutivos, utilizados atualmente na maioria das plantas geneticamente modificadas,

determinam a expressão da proteína em vários tecidos da planta. Desta forma, os insetos herbívoros que se alimentarem nas diferentes partes de plantas geneticamente modificadas poderão ingerir proteínas *Bt* (Shuler et al., 1999a). Assim, van Emden (1991) chamou a atenção para a importância de estudos de avaliação da interação de plantas geneticamente modificadas e inimigos naturais.

Wright & Verkerk (1995) consideraram que devido aos efeitos da proteína *Bt*, contida nos tecidos da planta geneticamente modificada, possivelmente os hospedeiros (herbívoros) teriam menor qualidade, afetando assim o desenvolvimento de parasitóides de larvas. Estes parasitóides, nestas circunstâncias, não completariam o desenvolvimento biológico devido à morte prematura do hospedeiro. Entretanto, em baixos ou variáveis níveis de expressão de proteínas *Bt* nas plantas, poderia ocorrer o atraso no desenvolvimento biológico do hospedeiro, redução de consumo foliar e ganho de peso do mesmo (Mascarenhas & Lutrel, 1997; Johnson, 1997), porém não a sua morte, o que possibilitaria a continuidade do desenvolvimento biológico do parasitóide.

Schuler et al. (1999a), avaliando o desenvolvimento de *Cotesia plutellae* (Kurdjumov, 1912) em lagartas de *Plutella xylostella* (L., 1758), alimentando-se de canola geneticamente modificada (proteína Cry1Ac) e convencional, observaram que os parasitóides não apresentaram mudança de comportamento de parasitismo das larvas, independente da fonte do alimento do hospedeiro. Os parasitóides não completaram o ciclo nas lagartas que se alimentavam de canola geneticamente modificada, pois as mesmas morreram em consequência da ação da proteína *Bt*. Na canola convencional, os parasitóides emergiram de 63% dos hospedeiros. Em outro estudo, utilizando-se de lagartas de *P. xylostella*, de população de laboratório selecionada para resistência ao produto formulado

Bt, nas mesmas condições experimentais, não ocorreu diferença estatística quanto a sobrevivência do parasitóide em lagartas alimentadas em canola geneticamente modificada e convencional, ocorrendo 54% e 56% de parasitismo respectivamente. A presença da proteína *Bt* em canola geneticamente modificada não afetou a sobrevivência do parasitóide, confirmando-se resultados prévios com estudos similares utilizando-se o produto formulado *Bt* (López & Ferro, 1995; Blumberg et al., 1997; Chilcutt & Tabashnik, 1997).

Quanto aos parasitóide de ovos é conhecido que aspectos de qualidade do hospedeiro de criação podem afetar importantes características biológicas para criação e manutenção em laboratório, além de afetar a eficiência do inimigo natural no campo. Ashley et al. (1974) observaram que a capacidade de parasitismo e a progênie de *T. pretiosum* foram maiores para parasitóides provenientes de ovos de *H. zea* em relação aos criados em *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802). Esta mesma espécie de parasitóide, quando criada em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) apresentou maior capacidade de parasitismo (147,9 ovos) e longevidade (19,9 dias) em relação àqueles criados em *S. cerealella* (9,9 ovos e 4,5 dias, respectivamente), resultados que levaram vários laboratórios a criarem este parasitóide sobre ovos de *A. kuehniella*, ao invés de *S. cerealella* (Lewis et al., 1976).

Comparando os parâmetros biológicos de duas espécies de *Trichogramma* criadas sobre ovos de *A. kuehniella* e *S. cerealella* em diferentes temperaturas Parra et al. (1987) observaram que a porcentagem de emergência, duração do período ovo-adulto e longevidade foram mais adequadas quando o parasitóide foi criado em *A. kuehniella*. Estudos similares de Stein & Parra (1987) com *Trichogramma* sp. em ovos de *A. kuehniella*, *S. cerealella* e *P. interpunctella*, não indicaram influência do hospedeiro na longevidade do parasitóide, porém verificaram que ocorreu emergência de mais de um parasitóide por ovo (1,16)

do hospedeiro *A. kuehniella*, enquanto nos demais ocorreu a emergência de apenas um parasitóide por ovo. Gomes (1997) avaliou o desenvolvimento biológico de *T. pretiosum* e *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) em três diferentes hospedeiros. Os resultados demonstraram que ambos os parasitóides desenvolveram-se melhor em *A. kuehniella* e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) do que em *S. cerealella*, demonstrando a inadequação nutricional deste último hospedeiro.

Em soja convencional, com características de resistência a pragas, a emergência de parasitóides foi reduzida, indicando a influência da qualidade do hospedeiro no desenvolvimento dos mesmos (Hoy & Herzog, 1985). Cultivares de trigo moderadamente resistentes ao pulgão *Metopolophium dirhodum* (Walk., 1848) reduziram em 5% o tamanho desta praga, resultando em 34% de redução do peso e 26% de redução de fertilidade do parasitóide *Aphidius rhopalosiphii* (van Emden et al., 1995).

O comportamento de parasitismo envolve complexos estímulos, os quais estão relacionados à localização do habitat do hospedeiro até a aceitação do mesmo. O parasitóide *Trichogramma* spp. utiliza-se de vários estímulos (químicos e físicos) para efetuar o parasitismo de ovos de seus hospedeiros (Vinson, 1976; Bar et al., 1979; Altieri et al., 1981; Martin et al., 1981; Beevers et al., 1981; Vinson, 1984; Keller, 1987; Noldus, 1988; Noldus et al., 1988; Vinson, 1997).

Schuler et al. (1999b) compararam a resposta de *C. plutellae* a folhas de canola geneticamente modificada e convencional, natural e artificialmente danificadas. Folhas de ambos os materiais foram oferecidas às lagartas de *P. xylostella* por 12 horas. Quando expostas a *P. xylostella*, folhas de canola geneticamente modificadas foram menos danificadas por lagartas de população suscetível ao *Bt*, comparativamente à convencional. Os dados de preferência

revelaram que a maior parte da população do parasitóide, neste caso, preferiu realizar o “pouso” em folhas de canola convencional. Quando as folhas foram danificadas artificialmente, em proporções similares, não houve diferença quanto à preferência do parasitóide à canola geneticamente modificada ou convencional. O mesmo resultado foi obtido quando os danos foram feitos por lagartas de população resistente ao *Bt*. Os autores verificaram que a atratividade das plantas (geneticamente modificadas ou convencionais) aos parasitóides foi similar independentemente da forma como as mesmas foram danificadas. Todavia, ocorreu diferente comportamento do parasitóide quanto à atratividade pela planta em função da proporção de dano nas folhas. Os parasitóides preferiram folhas com maior intensidade de dano (tanto as geneticamente modificadas quanto as convencionais).

Visto que as fêmeas de parasitóides são induzidas por voláteis produzidas por plantas durante o processo de herbivoria, para o encontro do hospedeiro, a diminuição do dano em planta geneticamente modificada poderia reduzir a atratividade das mesmas aos parasitóides (Johnson, 1997), determinado possivelmente a menor preferência dos mesmos as folhas com menores danos. De Moraes et al. (2000) relatam, no entanto, que alguns compostos voláteis são liberados não apenas pelo tecido foliar danificado, mas também por folhas não atacadas, em uma resposta sistêmica da planta ao dano dos insetos.

Orr & Land (1997) comparando o parasitismo de lagartas de *O. nubilalis* por *Erioborus terebrans* (Gravenhorst, 1829) e *Macrocentrus grandii* (Goidanich, 1937) observaram não haver diferença entre áreas com milho geneticamente modificado e convencional. Estes dados demonstraram que o parasitóide localizou o hospedeiro em condições de campo no milho geneticamente

modificado da mesma forma que no milho convencional. Os autores também não observaram diferenças quanto ao parasitismo de ovos entre os tratamentos.

Em estudo com *Trichogramma brassicae* (Bezdenko, 1963) Lozzia & Manachini (2002) avaliaram o efeito de ovos *O. nubilalis* coletados em milho geneticamente modificado e convencional sobre o desenvolvimento biológico deste parasitóide. Os bioensaios foram realizados por três gerações sucessivas do parasitóide e observou-se que não houve diferença estatística quanto ao parasitismo, longevidade, mortalidade, número de parasitóides e razão sexual de *T. brassicae* que emergiram de ovos coletados em milho geneticamente modificado e convencional. Também não houve diferença estatística, para os mesmos parâmetros, dos parasitóides emergidos de ovos de insetos sobreviventes no milho geneticamente modificado e convencional. Os autores relataram, porém, que na segunda geração o número de parasitóides emergidos em ovos de *O. nubilalis* foi menor em milho geneticamente modificado (média de 7,2 parasitóides), comparativamente ao milho convencional (média de 11,7 parasitóides). Na primeira e terceira gerações não ocorreram diferenças estatísticas no número de parasitóides.

No Brasil, Martinelli (2001), em condições de campo, comparou a porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* sp. sobre ovos de *Helicoverpa zea*, coletados em espigas dos milhos geneticamente modificados BT11 e ICP4, e respectivos híbridos convencionais. O autor relatou que o parasitismo ocorreu em índices similares entre os milhos BT11, ICP4 e os híbridos convencionais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no período de dezembro de 1999 a julho de 2002, no laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP, e nas Estações Experimentais da Monsanto do Brasil Ltda em Barretos, SP, Santa Cruz das Palmeiras, SP, e Rolândia, PR.

3.1 Estudo da biologia comparada de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)

3.1.1 Obtenção da praga e das plantas

3.1.1.1 Criação estoque de *S. frugiperda*

No estudo da biologia, utilizou-se uma população de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) do laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP. Para o estabelecimento da criação procedeu-se à coleta de lagartas, de diferentes idades, em campos de milho localizados na área experimental do Departamento de Genética (ESALQ/USP). Novas coletas de

lagartas foram realizadas na mesma área em outras épocas, adicionando-as à criação inicial, com o intuito de aumentar a variabilidade genética da população. As lagartas foram criadas em dieta artificial (Greene et al., 1976), mantendo-as no interior de tubos de vidro de 8,5 cm de altura por 2,5 cm de diâmetro, colocadas em suportes fixos (Figuras 1A e 1B).

As lagartas foram mantidas nos tubos de vidro com dieta até a fase de pupa. Nesta fase procedeu-se à separação das pupas por sexo conforme Butt & Cantu (1962). Posteriormente, foram acondicionadas em placas de Petri, de 9,5 cm de diâmetro, até a emergência dos adultos. Os adultos foram mantidos em tubos de PVC, de 10 cm de diâmetro e 21 cm de altura, sendo os mesmos fechados, em ambas as extremidades, por placas de Petri de 16,5 cm de diâmetro (Figura 1C). Os tubos de PVC eram revestidos internamente com papel jornal, e continham cinco casais de *S. frugiperda*, emergidos no mesmo dia. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, colocada em recipiente plástico com capacidade para 30 ml e oferecida aos insetos por capilaridade através de um rolo dental. O alimento foi renovado diariamente, de modo a evitar a sua contaminação e fermentação.

As massas de ovos sobre o papel jornal eram recortadas com tesoura e acondicionadas em placas de Petri, de 9,5 cm de diâmetro, revestidas com papel filtro umedecido com água destilada até a eclosão das lagartas.

A criação estoque foi mantida em sala climatizada a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Figura 1 - Criação de *Spodoptera frugiperda* em laboratório: A) tubo de vidro contendo dieta artificial; B) tubos de PVC para obtenção de ovos; C) suporte para acondicionamento dos tubos.

3.1.1.2 Obtenção de plantas de milho convencional e geneticamente modificado (MON810)

As folhas do milho convencional e geneticamente modificado (MON810) utilizadas nos estudos da biologia de *S. frugiperda* foram obtidas em

vasos e em condições de telado, no laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP) (Figura 2).

As sementes de milho convencional e geneticamente modificado (MON810) utilizadas (híbrido DKB909) foram fornecidas pela Monsanto do Brasil Ltda. O milho MON810 foi desenvolvido por esta Empresa, inserindo à planta o gene *cry1Ab*, através do método de biobalística (aceleração de partículas) (Klein et al., 1987, 1988a, 1988b, 1988c; Christou et al., 1988). O gene

Figura 2 - Telado de 5 m x 5 m x 4 m (A) utilizado para a obtenção de plantas de milho convencional e geneticamente modificado (MON810); (B) vaso plástico utilizado para obtenção das plantas no experimento com *Spodoptera frugiperda*. Piracicaba, SP. ESALQ/USP.

cry1Ab foi isolado da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 (Fischhoff et al., 1987; Höfte & Whiteley, 1989). Uma vez inserido o gene *cry1Ab* em células receptoras (milho Hi-II), obteve-se o milho MON810 através de técnicas de

regeneração de tecidos, com posteriores cruzamentos com germoplasma comercial. O milho MON810 caracteriza-se por ser similar ao milho convencional, porém sendo resistente a espécies de lepidópteros-praga, devido à codificação da proteína Cry1Ab nos tecidos da planta (Armstrong et al., 1995).

Vasos plásticos com capacidade de 5 Kg de solo foram utilizados para o cultivo das plantas (quatro plantas por vaso). Cerca de 20 a 30 vasos para cada tratamento (milho convencional e geneticamente modificado MON810) eram preparados sistematicamente para a semeadura, de modo a ter disponibilidade de folhas para a realização do estudo. O preparo do solo utilizado nos vasos e a adubação de plantio e cobertura foram realizados conforme recomendação técnica para a cultura (Raij et al., 1999). Irrigação foi efetuada de modo a suprir as necessidades hídricas das plantas.

Os vasos dos distintos tratamentos foram mantidos, separadamente, em telados (5,0 m x 5,0 m x 4,0 m). O telado serviu como barreira para pragas que infestam a cultura do milho, de modo a não prejudicarem o desenvolvimento das plantas. O início da coleta de folhas, para serem utilizadas como substratos alimentares, ocorreu quando a planta apresentava cerca de cinco a seis folhas.

3.1.2 Desenvolvimento biológico de *S. frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810)

3.1.2.1 Biologia comparada em milho convencional e geneticamente modificado

Para iniciar o estudo da biologia de *S. frugiperda* nos dois diferentes substratos, foram utilizadas as primeiras posturas da criação estoque. Aleatoriamente, retiraram-se 30 posturas dos tubos de PVC, utilizados para a criação. Este procedimento foi realizado com a finalidade de aumentar a variabilidade genética.

Lagartas recém-eclodidas foram individualizadas em placas de acrílico (6,5 cm x 2 cm), revestidas com papel filtro umedecido com água destilada (Figura 3). A individualização foi realizada com auxílio de pincel provido de ponta fina. As placas, devidamente identificadas, foram mantidas em prateleiras em sala climatizada a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Diariamente, eram oferecidas folhas dos distintos tratamentos às lagartas. As folhas eram retiradas da parte superior da planta (cartucho do milho), por ser a porção onde as lagartas habitualmente se alimentam quando de infestações naturais de campo. As folhas eram cortadas, com auxílio de tesoura, em pedaços menores, de forma a serem acondicionadas nas placas de acrílico, e em quantidade suficiente para a alimentação das lagartas. A limpeza e observação das placas eram realizadas diariamente no momento da troca das folhas, quando fezes e restos do alimento do dia anterior eram removidos.

Figura 3 - Placa de acrílico contendo folhas para o estudo de biologia de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado.

O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (milho convencional e MON810). Os estudos de biologia foram iniciados com 425 lagartas, para cada tratamento.

Para cada tratamento, 25 lagartas, do total referido, foram utilizadas para a determinação do número de ínstaes, medindo-se diariamente a largura da cápsula cefálica das mesmas, utilizando-se de ocular graduada acoplada ao microscópio estereoscópico. As medições foram interrompidas quando a lagarta iniciava a fase de pré-pupa. Considerou-se como início da fase de pré-pupa quando as lagartas mudavam a cor característica do tegumento e paravam de se alimentar.

De modo a manter o número de 25 lagartas para a medição de cápsula cefálica, sempre que observada a morte do inseto, procedia-se à substituição por outra lagarta viva, advinda do mesmo tratamento, tendo tamanho similar

àquela que morreu. Este procedimento foi um artifício utilizado, partindo-se da premissa de que as lagartas tinham desenvolvimento homogêneo, uma vez que no tratamento MON810, devido à expressão da proteína Cry1Ab, era esperada alta mortalidade larval.

As pupas foram mantidas nas placas de acrílico, sendo efetuada a separação por sexo (Butt & Cantu, 1962), pesando-as com 24 horas de idade, e sendo considerados anormais aquelas que apresentavam deformação abdominal. A razão sexual foi obtida pela fórmula:

$$rs = \frac{\text{número de fêmeas}}{\text{número de fêmeas} + \text{número de machos}}$$

Após a emergência dos adultos, mantinham-se 20 casais com a mesma idade, para cada tratamento, para a avaliação dos parâmetros correspondentes à fase adulta. Os casais foram mantidos em tubos de PVC, conforme procedimento descrito para a criação estoque (item 3.1.1). As massas de ovos foram recortadas diariamente do papel jornal, e acondicionadas nas placas de acrílico, revestidas com papel filtro umedecido com água destilada.

A contagem dos ovos foi realizada utilizando-se a metodologia de Leuck & Perkins (1972), contando-se o número de ovos da camada superior e multiplicando-se o número de camadas da postura, somando-se, posteriormente, os ovos contados ao redor das camadas subseqüentes.

Para a avaliação da viabilidade dos ovos e período de incubação, foram consideradas todas as massas de ovos dos distintos tratamentos. Diariamente, contou-se o número de lagartas eclodidas, de modo a se determinar o período de incubação e respectiva viabilidade por tratamento.

Os adultos foram alimentados, conforme descrito no item 3.1.1, sendo considerados anormais aqueles que apresentavam deformação de asas.

Após a morte dos insetos adultos, procedeu-se à avaliação do número de cópulas por fêmea, através da contagem do número de espermatóforos, realizada pelo método descrito por Brown & Dewhurst (1975).

Os parâmetros biológicos observados, nos distintos tratamentos, foram:

- fase larval: duração do período, viabilidade, número de instares e duração de cada instar;
- fase de pré-pupa: duração do período e viabilidade;
- fase de pupa: duração do período, peso com 24 horas de idade, viabilidade, razão sexual e porcentagem de deformação;
- fase adulta: longevidade de machos e fêmeas, período de pré-oviposição, período de oviposição, número de posturas por fêmea, número de ovos por fêmea por postura, total de ovos por fêmea, número de cópulas (número de espermatóforos na bolsa copuladora das fêmeas), porcentagem de deformação;
- fase de ovo: período de incubação e viabilidade;
- ciclo total: duração e viabilidade (ovo-adulto)

Este estudo foi realizado por três gerações consecutivas, em ambos os substratos.

3.1.2.1.1 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados em delineamento inteiramente casualizado e as médias foram submetidas à análise da variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), com exceção do parâmetro duração de pré-pupa. Este parâmetro foi analisado pelo teste não paramétrico de χ^2 . Os tratamentos foram dispostos no esquema fatorial com dois fatores: milho (convencional e geneticamente modificado) e geração (F_1 a F_3). Os dados foram transformados, quando necessário, conforme Tabela 1. As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.1.2.2 Tabela de vida de fertilidade

Com os dados biológicos obtidos, elaboraram-se as tabelas de vida de fertilidade, conforme descrito por Silveira Neto et al. (1976), para ambos os tratamentos (milho convencional e MON810) nas distintas gerações.

Para a confecção da tabela de vida, foram calculados os seguintes parâmetros:

- Taxa líquida de reprodução (R_0)

$$R_0 = \sum m_x \cdot l_x$$

- Duração média de uma geração (T)

$$T = \sum m_x \cdot l_x \cdot x / R_0$$

- Capacidade de aumentar em número (r_m)

$$r_m = \ln R_o / T$$

- Razão finita de aumento (λ)

$$\ddot{e} = e^{r_m}$$

x = intervalo de tempo no qual foi tomada a amostra;

m_x = fertilidade específica: número de descendentes produzidos no estágio x , por fêmea e que darão origem a fêmeas;

l_x = taxa de sobrevivência: probabilidade do inseto nascido estar vivo na idade x .

3.1.2.3 Consumo foliar

Para cada tratamento (milho convencional e geneticamente modificado MON810) foi avaliado o consumo de 20 lagartas (repetições) de terceiro ínstar (recém transformadas). O estudo foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e as lagartas obtidas conforme 3.1.2.1.

As folhas utilizadas para a avaliação de consumo foram obtidas conforme 3.1.1.2. Com auxílio de vazador de área conhecida (5 cm²), foram retirados discos ao longo das laterais das folhas, desconsiderando-se as nervuras centrais e extremidades das folhas.

Tabela 1. Transformações utilizadas para análise estatística de parâmetros biológicos de *S. frugiperda* alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810).

Parâmetro	Transformação
Fase larval	
duração da fase larval	$\log x$
Fase de pré-pupa	
duração da fase de pré-pupa	sem transformação
Fase de pupa	
duração da fase de pupa (fêmea)	x^{-1}
duração da fase de pupa (macho)	x^{-1}
peso de pupa (fêmea e macho)	$x^{1,3}$
peso de pupa (fêmea)	$x^{1,2}$
peso de pupa (macho)	$x^{1,3}$
Fase adulta	
longevidade da fêmea	$\log x$
longevidade do macho	sem transformação
período de pré-oviposição	$\log x$
período de oviposição	$\log x$
número de posturas/fêmea	$\log x$
número de ovos/fêmea/postura	$\log x$
total de ovos/fêmea	$\sqrt{x}$
Fase de ovo	
período de incubação	x^2

Os discos foliares eram colocados em placas de acrílico, revestidas com papel filtro umedecido com água destilada. A seguir, uma lagarta de terceiro ínstar era transferida para a placa, com auxílio de pincel provido de ponta fina.

As lagartas recebiam suficiente número de discos foliares diariamente, de forma a sobrar alimento no dia seguinte, ocasião em que novos discos eram oferecidos à mesma. Diariamente, avaliou-se a área foliar das sobras, em cm², fazendo-se uso de medidor de área foliar (Portátil LI-COR modelo LI-3000A). As avaliações foram feitas até o momento em que as lagartas deixaram de se alimentar (início de fase de pré-pupa). A área consumida foi determinada subtraindo-se a área final da inicial.

3.1.2.3.1 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, e as médias submetidas à análise da variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), sendo os tratamentos dispostos no esquema fatorial com dois fatores: milho (convencional e geneticamente modificado) e geração (F_1 a F_3). As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.1.2.4 Nutrição quantitativa

Este ensaio foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (milho convencional e geneticamente modificado MON810), por uma geração, utilizando-se 25 lagartas (repetições) de quinto instar (recém transformadas), obtidas na criação estoque (item 3.1.1.1). Para a

determinação dos índices nutricionais quantitativos, utilizou-se a metodologia descrita por Waldbauer (1968), modificada por Scriber & Slansky (1981).

Os índices calculados foram:

- Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI)

$$ECI = GP / PI \times 100,$$

GP = ganho de peso durante o período de alimentação,

PI = peso do alimento consumido durante T.

- Digestibilidade aparente (AD)

$$AD = PI - PE / PI \times 100,$$

PI = peso do alimento consumido durante T,

PE = peso de fezes produzidas durante T.

- Conversão do alimento digerido (ECD)

$$ECD = GP / PI - PE,$$

GP = ganho de peso durante o período de alimentação,

PI = peso do alimento consumido durante T,

PE = peso das fezes produzidas durante T.

- Custo metabólico (%)

$$\text{Custo metabólico} = 100 - ECD$$

Os dados foram obtidos com base no peso de matéria fresca do alimento, dos insetos e fezes. Para cada substrato (milho convencional e MON810) determinou-se: o alimento consumido, o ganho de peso e as fezes produzidas. As lagartas foram pesadas no início do experimento e individualizadas em placas de acrílico (6,5 cm de diâmetro x 2 cm de altura). O alimento foi oferecido às lagartas durante 24 horas. Foi oferecida uma maior quantidade de folha do que normalmente a lagarta consumiria, no período, de forma a não faltar alimento. O alimento foi pesado antes de ser oferecido e após 24 horas para se determinar o consumo no período. As lagartas, após o período de alimentação foram pesadas e imediatamente mortas, em clorofórmio, sendo as mesmas acondicionadas separadamente em tubos de vidro (8,5 cm de altura por 2,5 de diâmetro) fechados com papel alumínio. As fezes foram separadas do restante do alimento, sendo acondicionadas em papel alumínio, separadamente por repetição, para pesagem.

Paralelamente, tomou-se uma alíquota de dez folhas, para ambos os tratamentos, para se obter o peso de matéria fresca inicial e final (24 horas), com o objetivo de se estimar um fator de correção em função da absorção ou perda de água no ambiente. A partir deste fator, pôde-se fazer a correção nos dados obtidos, em peso de matéria fresca, para o alimento consumido pelo inseto.

3.1.2.4.1 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, e as médias submetidas à análise da variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de ECD foram

transformados elevando-se os mesmos ao quadrado, e os referentes a custo metabólico em log x. As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.1.2.5 Canibalismo de *S. frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810)

Com o intuito de se avaliar o efeito do milho MON810 no comportamento de canibalismo de *S. frugiperda*, conduziu-se este estudo. As lagartas utilizadas foram provenientes da criação estoque (item 3.1.1.1).

Este estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições, no esquema fatorial 2 x 5 (substrato alimentar e densidade populacional). Os tratamentos referentes ao substrato foram compostos pelo milho convencional e geneticamente modificado (MON810). As densidades populacionais foram representadas por uma, duas, três, quatro e cinco lagartas mantidas em placa de Petri com 9,5 cm de diâmetro e 5 cm de altura.

Cerca de 1.000 lagartas recém eclodidas foram acondicionadas em recipientes plásticos (21,5 cm x 30 cm x 12,5 cm), com orifícios na tampa, revestidos com “voile”, para permitir a ventilação. O fundo do recipiente era revestido com papel filtro, umedecido com água destilada. Nos distintos tratamentos foram oferecidas folhas de milho como alimento das lagartas. Assim que as lagartas encontravam-se em início de terceiro ínstar (período em que se manifesta o canibalismo), elas foram separadas, nos distintos tratamentos, utilizando-se metodologia similar à de Nalim (1991). As folhas

foram oferecidas diariamente, conforme descrito no item 3.1.2, de forma a não faltar alimento aos insetos.

Diariamente, por ocasião da troca de alimento e limpeza da placa, efetuaram-se as avaliações, anotando-se o número de indivíduos sobreviventes no período.

Desde que ocorreu a morte de insetos para ambos os tratamentos, efetuou-se a correção da mortalidade em relação ao tratamento testemunha (uma lagarta por placa), utilizando-se a fórmula de Abbott:

$$\% \text{ mortalidade corrigida} = \frac{\% \text{ mortalidade no tratamento} - \% \text{ mortalidade na testemunha}}{100 - \% \text{ mortalidade na testemunha}} \times 100$$

Através dos dados de mortalidade corrigida, efetuou-se a correção da viabilidade para os distintos tratamentos conforme fórmula a seguir:

$$\% \text{ viabilidade corrigida} = 100 - \% \text{ mortalidade corrigida}$$

3.2 Avaliação da infestação de *S. frugiperda* em milho geneticamente modificado

3.2.1 Efeito do nível de infestação de *S. frugiperda*, em diferentes estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810), nos danos da praga

A pesquisa foi realizada no período de dezembro de 1999 a julho de 2000, na Estação Experimental da Monsanto do Brasil Ltda, localizada em Santa Cruz das Palmeiras, SP.

Os experimentos foram realizados por duas safras consecutivas (safra de verão 1999/2000 e milho safrinha 2000) sob condições de telado. Os experimentos foram plantados em 17 de dezembro de 1999 (safra de verão) e 15 de março de 2000 (safrinha), utilizando-se o híbrido DKB806, conduzido no espaçamento de 0,80 m entre linhas, e de acordo com o processo de liberação deferido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento estatístico inteiramente casualizado com 16 tratamentos e quatro repetições, no esquema fatorial 2 x 2 x 4 (milho x estágio fenológico x densidade populacional) (Tabela 2).

A parcela experimental foi constituída por duas linhas de milho com 3 m de comprimento, mantidas no telado (2 m x 3 m x 2 m) (Figura 4A). A semeadura foi realizada manualmente, de acordo com as recomendações técnicas para a cultura (EMBRAPA, 1997).

A infestação de *S. frugiperda* foi realizada utilizando-se o equipamento “bazooka”, conforme metodologia de Mihn (1987) (Figura 4B). Centenas de

lagartas recém-eclodidas foram misturadas, com auxílio de pincel, em substrato à base de sabugo de milho. O substrato e as lagartas foram acondicionadas no reservatório da “bazooka”, para efetuar-se a infestação artificial nas plantas.

Tabela 2. Tratamentos utilizados em experimentos visando avaliar o efeito do nível de infestação de *S. frugiperda* em diferentes estádios fenológicos do milho (convencional e geneticamente modificado MON810) nos danos da praga. Santa Cruz das Palmeiras, SP, 1999/2000.

Tratamento	Estádio fenológico (número de folhas)	Densidade populacional (número de lagartas por planta)
1. Milho convencional	2 - 4	0
2. Milho convencional	2 - 4	5
3. Milho convencional	2 - 4	10
4. Milho convencional	2 - 4	15
5. Milho convencional	6 - 8	0
6. Milho convencional	6 - 8	5
7. Milho convencional	6 - 8	10
8. Milho convencional	6 - 8	15
9. Milho MON810	2 - 4	0
10. Milho MON810	2 - 4	5
11. Milho MON810	2 - 4	10
12. Milho MON810	2 - 4	15
13. Milho MON810	6 - 8	0
14. Milho MON810	6 - 8	5
15. Milho MON810	6 - 8	10
16. Milho MON810	6 - 8	15

Figura 4 - A) Telado utilizado em experimento para avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810); B) partes da “bazooka”; C) forma de infestação da planta com a “bazooka”.

A “bazooka” foi calibrada de modo a se obterem cinco lagartas para cada amostra “depositada” pelo equipamento. Os insetos utilizados foram provenientes de criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ/USP, Piracicaba, SP, em dieta artificial (item 3.1.1).

A infestação artificial foi realizada em todas as plantas dos tratamentos com diferentes densidades populacionais (0, 5, 10 e 15 lagartas) e nos vários estádios fenológicos estabelecidos (2 a 4 e 6 a 8 folhas). A infestação foi realizada, manualmente, dispondo o equipamento sobre o cartucho da planta (Figura 4C), e acionando sua “matraca” tantas vezes quanto necessário para se obter a densidade populacional de 5, 10 e 15 lagartas. As infestações foram realizadas em 31 de dezembro de 1999 e 12 de janeiro de 2000, respectivamente, para os estádios fenológicos de 2 a 4 e 6 a 8 folhas, no primeiro experimento. No segundo experimento, as infestações foram realizadas em 25 de março de 2000 e 06 de abril de 2000, para ambos os estádios fenológicos, respectivamente.

As avaliações foram realizadas, em 25 plantas por parcela, aos 5, 10 e 15 dias após as infestações artificiais de *S. frugiperda*, anotando-se a porcentagem de plantas com danos no “cartucho”, bem como utilizando-se de escala visual de dano (escala de 0 a 9), adaptada da metodologia descrita por Davis et al. (1992) (Tabela 3). Foi verificado também, o número de lagartas após dez dias das infestações, em 15 plantas por parcela.

Tabela 3. Escala de notas (0 a 9) para avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* no cartucho do milho (adaptada de Davis et al., 1992).

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

3.2.1.1 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 x 2 x 4, com 16 tratamentos e

quatro repetições. Os fatores foram constituídos por: milho (convencional e geneticamente modificado), estágio da planta (2 a 4 e 6 a 8 folhas) e densidade populacional da praga (0, 5, 10 e 15 lagartas por planta).

Os parâmetros porcentagem de plantas com danos e número de lagartas nas plantas foram submetidos à análise de *deviance* (Nelder & Wedderburn, 1972), pois apresentaram distribuição binomial e Poisson (Demétrio, 2001), respectivamente, e compararam-se as médias através da técnica de contraste ($P < 0,05$). As notas médias de dano atribuídas às plantas apresentaram distribuição normal e foram submetidas à análise multivariada (análise de perfil), considerando a análise longitudinal dos dados (avaliação ao longo do tempo) (Liang & Zeger, 1986). Para comparar os tratamentos, utilizou-se o teste T^2 de Hotelling's (Hotelling, 1931), que é uma extensão multivariada do teste central t de Student. As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.2.2 Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação natural de *S. frugiperda*

A presente pesquisa foi realizada no período de dezembro de 1999 a agosto de 2001, nas Estações Experimentais da Monsanto do Brasil Ltda localizadas em Barretos, SP e Rolândia, PR. Os experimentos foram instalados de acordo com os processos de liberação deferidos pela CTNBio.

Em Barretos, SP, os experimentos foram plantados em 25 de março de 2000 e 30 de março de 2001. Em Rolândia, PR, o experimento foi instalado em 16 de março de 2001.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento estatístico inteiramente casualizado com dois tratamentos e oito repetições. Os tratamentos foram compostos por milho convencional e geneticamente modificado (MON810), utilizando-se os híbridos DKB806 e DKB909, nas safras 1999/2000 e 2000/2001, respectivamente.

Nos experimentos conduzidos em Barretos, a parcela experimental foi constituída por 535,60 m², ou seja, 4284,8 m² por tratamento. Em Rolândia as parcelas experimentais foram constituídas por 1250 m², perfazendo o total de 10.000 m² por tratamento.

Todos os tratos culturais adotados na condução da cultura foram realizados de acordo com as recomendações agronômicas estabelecidas para a mesma (EMBRAPA, 1997).

As avaliações foram efetuadas anotando-se porcentagem de plantas com dano no cartucho, em 50 plantas por parcela. Utilizou-se também da escala visual de dano (zero a nove) (Tabela 3), nas mesmas 50 plantas utilizadas para a avaliação de plantas com dano no cartucho. O número de lagartas pequenas (até 1,5 cm) e grandes (> 1,5 cm) foi avaliado em dez plantas por parcela. As plantas eram colhidas, e as folhas das mesmas eram cuidadosamente removidas de forma a permitir a contagem das lagartas.

3.2.2.1 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, com 2 tratamentos e 8 repetições.

Os parâmetros número de lagartas (pequenas e grandes), porcentagem de plantas com dano e notas médias de dano foram submetidos à análise de *deviance* (Nelder & Wedderburn, 1972), pois apresentaram distribuição binomial, Poisson e normal, respectivamente (Demétrio, 2001). Estes parâmetros foram analisados através de técnicas de estudos longitudinais, considerando as avaliações ao longo do tempo (Liang & Zeger, 1986). Para comparar os tratamentos, utilizou-se o teste T^2 de Hotelling's (Hotelling, 1931), que é uma extensão multivariada do teste central t de Student. As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.3 Interação tritrófica: *S. frugiperda*, *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner, 1983) e milho geneticamente modificado (MON810)

3.3.1 Avaliação da qualidade de ovos de *S. frugiperda*, alimentada em milho geneticamente modificado, no desenvolvimento e parasitismo de *T. atopovirilia*

3.3.1.1 Obtenção da planta, praga e parasitóide

3.3.1.1.1 Obtenção de plantas de milho convencional e geneticamente modificado

As folhas do milho convencional e geneticamente modificado (MON810) utilizadas foram provenientes do plantio realizado em telado no laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP), conforme descrito no item 3.1.1.2.

3.3.1.1.2 Criação de *S. frugiperda*

Os ovos e lagartas utilizadas neste estudo foram provenientes da criação estoque do laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP), conforme descrito no item 3.1.1.1.

3.3.1.1.3 Criação de *T. atopovirilia*

Devido ao melhor desempenho no parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. atopovirilia* (Beserra, 2000) optou-se por realizar o estudo com esta espécie.

Os parasitóides utilizados na presente pesquisa foram provenientes da criação estoque do laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP). A população inicial foi fornecida pela Dr^a. Francisca Nemauro P. Haji, do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA) da Empresa

Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Petrolina, PE. A criação em laboratório foi conduzida em tubos de vidro (8,5 cm de altura x 2,5 cm de diâmetro) fornecendo-se, como hospedeiro alternativo, ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), utilizando-se a metodologia de Parra et al. (1989) e Parra (1997).

3.3.1.2 Efeito da procedência dos ovos de *S. frugiperda* no desenvolvimento de *T. atopovirilia*

Cinco lagartas recém-eclodidas, provenientes da criação estoque (item 3.1.1.), foram acondicionadas em placas de acrílico (6,5 cm x 2 cm), revestidas com papel filtro umedecido com água destilada. Sobre o papel filtro foram acondicionados pedaços de folha de milho, com cerca de 3 cm de comprimento. Os pedaços de folhas foram trocados diariamente, por outros de características semelhantes. As lagartas foram individualizadas, em placas semelhantes às anteriormente descritas, quando atingiram cerca de 1 a 1,5 cm (terceiro ínstar), de modo a evitar o canibalismo. As lagartas foram alimentadas durante todo o período larval com folhas de milho convencional e geneticamente modificado (MON810). O ensaio foi iniciado com aproximadamente 2000 lagartas no milho convencional e 5000 lagartas no tratamento com milho MON810. O número diferente de lagartas utilizadas se deveu ao fato do milho geneticamente modificado (MON810) expressar a proteína Cry1Ab, a qual promove a morte de lagartas de *S. frugiperda*. Assim, utilizou-se um grande número de insetos para este tratamento, com o objetivo de se ter sobreviventes, os quais dariam origem

a adultos que realizariam posturas a serem oferecidas ao parasitóide *T. atopovirilia*.

Os adultos obtidos nos distintos tratamentos foram mantidos em tubos de PVC e sala climatizada conforme descrito no item 3.1.1.1.

Para atender à demanda de ovos, para a realização do estudo, várias criações foram efetuadas, utilizando-se os distintos substratos alimentares, conforme descrito anteriormente. Utilizou-se um número similar inicial de lagartas, programando as criações de modo a haver sincronia entre as posturas da praga e emergência dos parasitóides ao longo das gerações estudadas.

3.3.1.2.1 Interação do milho geneticamente modificado (MON810), *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* em sucessivas gerações do parasitóide

O ensaio foi conduzido em delineamento estatístico inteiramente casualizado, com três tratamentos, por cinco gerações sucessivas. O experimento foi realizado com três tratamentos. Utilizou-se o milho convencional e geneticamente modificado (MON810) como substrato alimentar, sequencialmente, e ambos, alternadamente, no decorrer das distintas gerações (Figura 5).

O estudo foi realizado em câmara climatizada a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h, com o objetivo de se avaliar o efeito do milho geneticamente modificado na qualidade dos ovos de *S. frugiperda* para o desenvolvimento biológico e na capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia*, em sucessivas gerações do parasitóide. Lagartas de *S. frugiperda* alimentaram-se no

Figura 5 - Tratamentos utilizados para avaliar o efeito da qualidade dos ovos de *Spodoptera frugiperda* no desenvolvimento de *Trichogramma atopovirilia*, em diferentes gerações do parasitóide.

milho convencional e MON810 (continuamente ao longo das gerações), e em ambos (alternadamente ao longo das gerações).

Em cada geração da praga, 40 fêmeas (repetições) recém-emergidas de *T. atopovirilia*, alimentadas com mel puro (Figura 6) foram individualizadas em tubos de vidro (7,5 cm de altura x 1,2 cm de diâmetro), oferecendo-se, para cada fêmea, 40 ovos de *S. frugiperda* com, no máximo, 12 horas de idade. As posturas, com 40 ovos, foram obtidas recortando-se as massas do papel jornal com tesoura e eliminando-se o excesso de ovos com o auxílio de pincel, sob microscópio estereoscópico.

A exposição dos ovos ao parasitismo foi permitida por 12 h, avaliando-se a porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, número de adultos emergidos por ovo, razão sexual e longevidade da fêmea.

A longevidade da fêmea foi avaliada, individualizando-se 50 fêmeas (repetições) em tubos de vidro conforme descrito anteriormente, alimentadas com mel puro.

3.3.1.2.2 Interação do milho geneticamente modificado (MON810), *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* após sucessivas gerações da praga

Este estudo foi conduzido em delineamento experimental, número de gerações, condições de temperatura, umidade relativa e fotoperíodo conforme descrito no item 3.3.1.2.1. Os tratamentos também foram delineados conforme item 3.3.1.2.1 (Figura 7).

O ensaio foi realizado com o objetivo de se avaliar o efeito do milho geneticamente modificado MON810 na qualidade dos ovos de *S. frugiperda*, para o desenvolvimento biológico e capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia*, após sucessivas gerações da praga alimentada no mesmo. Lagartas de *S. frugiperda* alimentaram-se do milho convencional e MON810 (continuamente ao longo das gerações), e de ambos (alternadamente ao longo das gerações). As avaliações foram realizadas com ovos de fêmeas da quinta geração de *S. frugiperda*. O procedimento experimental quanto ao número de ovos expostos ao parasitismo, manuseio do parasitóide e avaliações foram similares ao descrito no item 3.3.1.2.1.

Figura 6 - Tubo de vidro (A) e postura de *Spodoptera frugiperda* (B) utilizados no estudo da biologia de *Trichogramma atopovirilia*, em função dos substrato alimentar utilizado pela praga na fase larval.

Figura 7 - Tratamentos utilizados para avaliar o efeito da qualidade dos ovos de *Spodoptera frugiperda* na biologia de *Trichogramma atopovirilia*, após várias gerações da praga.

3.3.1.3 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 40 repetições para os parâmetros referentes ao parasitismo (porcentagem de parasitismo, porcentagem de emergência, razão sexual e número de parasitóides emergidos) e 50 repetições

para longevidade de fêmeas do parasitóide. Os dados referentes a parasitismo, porcentagem de emergência, razão sexual e número de parasitóides emergidos foram submetidos à análise de *deviance* (Nelder & Wedderburn, 1972) comparando-se as médias através da técnica de contraste ($P < 0,05$). Esta análise foi utilizada uma vez que o parasitismo, a porcentagem de emergência e a razão sexual seguiram o modelo de distribuição binomial e o número de parasitóides emergidos seguiu o modelo Poisson (Demétrio, 2001).

Os dados de longevidade, que seguiram o modelo de distribuição normal, foram analisados pelo teste não paramétrico logrank (Mantel, 1966). Os tratamentos foram dispostos no esquema fatorial com dois fatores: milho (convencional e geneticamente modificado) e gerações (F_1 a F_5). As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

3.3.2 Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda*, em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes estádios fenológicos da cultura

O experimento foi realizado na Estação Experimental de Monsanto do Brasil Ltda localizada em Barretos, SP, no período de abril a junho de 2001. O experimento foi instalado conforme o processo de liberação deferido pela CTNBio.

3.3.2.1 Distribuição espacial e temporal de posturas de *S. frugiperda*

O experimento foi conduzido em delineamento estatístico inteiramente casualizado, com dois tratamentos (milho convencional e geneticamente modificado MON810), dispostos em esquema fatorial 2 x 3 (milho x estágio fenológico da planta).

Cada tratamento foi composto por uma área de aproximadamente 0,5 hectare, com densidade populacional aproximada de 60.000 plantas por hectare. Para ambos os tratamentos, utilizaram-se sementes do milho híbrido DKB909. As áreas foram plantadas e os tratos culturais efetuados conforme recomendação agrônômica para a cultura (EMBRAPA, 1997), exceto a aplicação de inseticidas. Em torno da área experimental existiam as culturas de citros, soja, milho e pastagem. As posturas de *S. frugiperda* foram coletadas nos meses de abril a junho de 2001.

As posturas de *S. frugiperda* foram coletadas conforme Beserra (2000), semanalmente, amostrando-se 80 plantas, distribuídas aleatoriamente na área experimental. As coletas foram realizadas de modo a cobrir toda a área experimental. As plantas foram avaliadas em toda a sua extensão, registrando-se o número de folhas por planta e a localização da postura na planta. Com esses dados, foi possível agrupar as posturas de acordo com a região da planta (inferior, média e superior) e superfície da folha (abaxial e adaxial) e estudar a sua distribuição considerando-se os diferentes estádios fenológicos (4-6, 8-10 e 12-14 folhas) do milho (Cruz & Turpin, 1982).

As posturas coletadas, nos distintos tratamentos, eram devidamente identificadas e colocadas em placas de acrílico (6,5 cm de diâmetro e 2 cm de altura), revestidas com papel filtro umedecido com água destilada. As amostras

eram trazidas para o laboratório de Biologia de Insetos (ESALQ/USP), onde eram mantidas em tubos de vidro (8,5 cm de altura x 2,5 cm diâmetro) e, caracterizadas quanto ao número de camadas e o número de ovos, contados com base no número de lagartas eclodidas adicionado ao número de ovos parasitados.

3.3.2.2 Parasitismo natural por *Trichogramma* spp.

O parasitismo natural por *Trichogramma* spp. foi avaliado contando-se o número de ovos parasitados nas posturas coletadas no item 3.3.2.1. As posturas de *S. frugiperda* foram acondicionadas em tubos de vidro (8,5 cm de altura x 2,5 cm de diâmetro) e mantidas em câmara climatizada a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h, para a observação da emergência dos parasitóides. Os indivíduos que emergiram das posturas foram armazenados em álcool 70% e encaminhados para identificação no Laboratório de Taxonomia de Insetos da ESALQ/USP, coordenado pelo Prof. Dr. Roberto A. Zucchi.

3.3.2.3 Análise estatística

Os resultados da distribuição do número de ovos e número de camadas por postura de *S. frugiperda* (item 3.3.2.1), o número e a porcentagem de ovos parasitados por *Trichogramma* spp. (item 3.3.2.2) nos diferentes estádios fenológicos da planta foram submetidos à análise da variância e as médias

comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial com dois fatores: milho e estágio fenológico da planta. As análises foram efetuadas através do programa SAS (1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biologia comparada de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em milho MON810 e convencional

4.1.1 Fase larval

Ocorreu interação da duração da fase larval de *S. frugiperda* e substratos alimentares (milho convencional e geneticamente modificado MON810) e entre as gerações ($F= 55,34$; $P= 0,0001$). A duração da fase larval foi significativamente maior no milho MON810, sendo prolongada em 5,1; 4,0 e 7,5 dias em relação ao milho convencional, respectivamente para a primeira, segunda e terceira gerações deste lepidóptero em laboratório (Tabela 4).

Os valores obtidos para a fase larval de *S. frugiperda* no milho convencional (13,1 a 14,9 dias) foram semelhantes aos descritos por Fonseca (1937) e Lucchini (1997), utilizando-se de folhas de milho como substrato alimentar. No milho MON810, as fases larvais tiveram duração de 18,2, 18,9 e 21,3 dias na primeira, segunda e terceira gerações, respectivamente. Estes valores apesar de maiores do que aqueles obtidos em milho convencional, são similares aos verificados por Velez & Sifuentes (1967), também na mesma cultura.

Tabela 4. Duração e viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração da fase larval (dias)			
Milho convencional	$13,10 \pm 0,11$ b A ¹	$14,85 \pm 0,09$ b B	$13,79 \pm 0,10$ b C
MON810	$18,24 \pm 0,19$ a A	$18,89 \pm 0,22$ a A	$21,30 \pm 0,28$ a B
Viabilidade (%)			
Milho convencional	72,24	81,65	74,35
MON810	37,88	35,76	26,82

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Ao longo das gerações observou-se diferença estatística para ambos os tratamentos. No milho convencional, apesar da diferença estatística, os valores são próximos enquanto que no milho MON810 as diferenças são maiores, principalmente entre as duas primeiras gerações em relação à terceira (Tabela 4). Este alongamento na terceira geração, quando o inseto foi criado em material modificado, pode ser uma indicação de um efeito prejudicial cumulativo sobre *S. frugiperda*, levando a um maior alongamento nas gerações seguintes.

Conforme observado por Buntin et al. (2001), lagartas alimentadas com milho geneticamente modificado também apresentaram atraso no desenvolvimento larval. Segundo tais autores, enquanto que as lagartas que se alimentaram em milho convencional atingiram, num determinado período, tamanhos correspondentes aos últimos ínstaes, aquelas alimentadas nos milhos

MON810 e BT11 apresentaram tamanhos correspondente ao terceiro e quarto ínstaes.

Os dados obtidos na presente pesquisa comprovaram a ação da proteína Cry1Ab, presente no milho MON810, determinando prejuízos ao desenvolvimento larval de *S. frugiperda*, concordando com as observações de Buntin et al. (2001).

No milho convencional a viabilidade larval foi maior, variando entre 72,2 a 81,7%, enquanto que no milho MON810 ela variou de 26,8 a 37,9%. Estes dados confirmam a ação da proteína Cry1Ab em lagartas de *S. frugiperda*, indicando a sua ação deletéria sobre este inseto, conforme observado por outros autores (Armstrong, 1985; Williams et al., 1997 e 1998; Lynch et al., 1999; Buntin et al., 2001).

4.1.1.1 Número de ínstaes e respectivas durações

As lagartas mantidas em milho convencional apresentaram 6 ínstaes (Tabelas 5, 8 e 11), enquanto que no milho geneticamente modificado apresentaram 6 e 7 ínstaes, nas três gerações (Tabelas 6, 7, 9, 10, 12 e 13).

No milho MON810 houve 52% de lagartas com 6 ínstaes e 48% com 7 ínstaes, na primeira geração. Na segunda geração houve 64 e 36% de lagartas com 6 e 7 ínstaes, respectivamente. Na terceira geração foram observados 52 e 48% de lagartas com 6 e 7 ínstaes, respectivamente.

Tabela 5. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (primeira geração) com 6 ínstar mantidas em milho convencional, à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de Variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,29 \pm 0,01$	0,27 - 0,33		1,00	1
2	$0,54 \pm 0,04$	0,34 - 0,59	1,86	1,00	1
3	$0,82 \pm 0,04$	0,77 - 1,03	1,52	$1,08 \pm 0,05$	1 - 2
4	$1,54 \pm 0,04$	1,21 - 1,58	1,63	$1,52 \pm 0,15$	1 - 4
5	$1,96 \pm 0,08$	1,63 - 2,40	1,46	$1,89 \pm 0,11$	1 - 3
6	$2,68 \pm 0,04$	2,41 - 3,03	1,37	$4,16 \pm 0,13$	3 - 5
Média da razão de crescimento			1,57		

Tabela 6. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (primeira geração) com 6 ínstar mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,29 \pm 0,01$	0,24 - 0,33		$2,00 \pm 0,06$	1 - 3
2	$0,42 \pm 0,02$	0,34 - 0,56	1,44	$2,36 \pm 0,21$	1 - 5
3	$0,97 \pm 0,05$	0,60 - 1,41	2,31	$4,42 \pm 0,42$	2 - 8
4	$1,60 \pm 0,03$	1,42 - 1,76	1,65	$2,43 \pm 0,21$	1 - 4
5	$2,13 \pm 0,06$	1,77 - 2,51	1,33	$4,00 \pm 0,40$	1 - 9
6	$2,79 \pm 0,03$	2,61 - 3,00	1,31	$4,19 \pm 0,33$	1 - 8
Média da razão de crescimento			1,61		

Conforme relatado por Slansky Jr. & Rodriguez (1987) a presença de ínstaes adicionais pode ser um reflexo de inadequação nutricional. Conforme observado no item 4.1.1, as lagartas mantidas no milho MON810 apresentaram maior duração do período larval, em relação àquelas mantidas em milho convencional. Estes dados indicaram uma aparente menor qualidade do milho MON810 para o inseto. Entretanto ambos correspondem ao mesmo híbrido (DKB909) e, portanto possuem as mesmas características nutricionais. Segundo Sanders et al. (1998) o milho convencional e geneticamente modificado diferem entre si quanto a resistência a insetos, tendo, porém características físicas, químicas e morfológicas semelhantes. Os autores relataram que híbridos de milho geneticamente modificado, como o MON810, são equivalentes aos respectivos híbridos convencionais, pois a quantidade de proteínas, gorduras, cinzas, fibras, umidade, composição de aminoácidos, ácidos graxos, cálcio, fósforo, etc, são similares para ambos. Sendo assim, tem-se que a ingestão da proteína Cry1Ab pelas lagartas foi o fator determinante no alongamento da fase larval, levando-as a ter um ínstar adicional.

As medidas da cápsula cefálica dos insetos que alimentaram em ambos os milhos não apresentaram grandes variações, no mesmo ínstar, para as lagartas com 6 e 7 ínstaes.

O dados obtidos para o inseto criado em milho convencional (6 ínstaes) são similares aos obtidos por outros autores (Ferraz, 1982; Alvarez & Sanchez, 1983; Oliveira, 1987; Castro & Pitre, 1988 e Nalim, 1991) em estudos com substrato natural e dieta artificial.

Tabela 7. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (primeira geração) com 7 ínstar mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,29 \pm 0,01$	0,24 - 0,33		$2,00 \pm 0,06$	1 - 3
2	$0,42 \pm 0,02$	0,34 - 0,56	1,44	$2,36 \pm 0,21$	1 - 5
3	$0,67 \pm 0,05$	0,60 - 0,76	1,59	$1,50 \pm 0,14$	1 - 2
4	$1,08 \pm 0,05$	0,77 - 1,41	1,61	$3,64 \pm 0,57$	1 - 7
5	$1,60 \pm 0,03$	1,42 - 1,76	1,48	$2,43 \pm 0,21$	1 - 4
6	$2,13 \pm 0,06$	1,77 - 2,59	1,31	$4,00 \pm 0,40$	1 - 9
7	$2,79 \pm 0,10$	2,61 - 3,00	1,31	$4,19 \pm 0,33$	1 - 8
Média da razão de crescimento			1,61		

Tabela 8. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (segunda geração) com 6 ínstar mantidas em milho convencional, à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,43 \pm 0,01$	0,27 - 0,32		1,00	1
2	$0,49 \pm 0,02$	0,43 - 0,60	1,14	$1,72 \pm 0,04$	1 - 4
3	$1,16 \pm 0,05$	0,64 - 1,16	2,37	$2,75 \pm 0,04$	1 - 4
4	$1,81 \pm 0,06$	1,18 - 1,81	1,56	$2,12 \pm 0,04$	1 - 5
5	$2,40 \pm 0,05$	1,86 - 2,40	1,33	$2,29 \pm 0,03$	1 - 3
6	$3,01 \pm 0,04$	2,55 - 3,01	1,23	$3,58 \pm 0,03$	3 - 4
Média da razão de crescimento			1,27		

Tabela 9. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (segunda geração) com 6 ínstar mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,41 \pm 0,02$	0,22 - 0,40		$1,96 \pm 0,04$	1 - 3
2	$0,61 \pm 0,01$	0,41 - 0,50	1,49	$2,08 \pm 0,03$	1 - 3
3	$0,90 \pm 0,02$	0,61 - 0,80	1,48	$1,83 \pm 0,02$	1 - 2
4	$1,43 \pm 0,05$	0,90 - 1,41	1,59	$2,76 \pm 0,06$	1 - 5
5	$2,25 \pm 0,06$	1,43 - 2,20	1,57	$3,56 \pm 0,09$	2 - 7
6	$2,62 \pm 0,04$	2,25 - 2,88	1,16	$4,60 \pm 0,07$	1 - 8
Média da razão de crescimento			1,46		

Tabela 10. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (segunda geração) com 7 ínstar mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,41 \pm 0,02$	0,22 - 0,40		$1,96 \pm 0,04$	1 - 3
2	$0,61 \pm 0,01$	0,41 - 0,50	1,49	$2,08 \pm 0,03$	1 - 3
3	$0,90 \pm 0,02$	0,61 - 0,80	1,48	$1,83 \pm 0,02$	1 - 2
4	$1,43 \pm 0,04$	0,90 - 1,91	1,59	$2,76 \pm 0,06$	1 - 5
5	$1,85 \pm 0,04$	1,43 - 1,83	1,29	$2,44 \pm 0,04$	2 - 4
6	$2,25 \pm 0,04$	1,83 - 2,20	1,21	$2,86 \pm 0,04$	1 - 4
7	$2,62 \pm 0,04$	2,25 - 2,88	1,16	$4,60 \pm 0,07$	1 - 8
Média da razão de crescimento			1,37		

Tabela 11. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (terceira geração) com 6 ínstar mantidas em milho convencional, à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,27 \pm 0,02$	0,25 - 0,30		$1,40 \pm 0,03$	1 - 3
2	$0,47 \pm 0,02$	0,41 - 0,65	1,79	$2,04 \pm 0,02$	1 - 3
3	$0,84 \pm 0,05$	0,64 - 1,09	1,79	$1,48 \pm 0,04$	1 - 4
4	$1,26 \pm 0,02$	1,16 - 1,33	1,50	$1,56 \pm 0,03$	1 - 2
5	$1,92 \pm 0,11$	1,34 - 2,71	1,52	$2,80 \pm 0,05$	1 - 5
6	$2,83 \pm 0,03$	2,72 - 3,02	1,47	$2,61 \pm 0,03$	2 - 4
Média da razão de crescimento			1,61		

Tabela 12. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstar larvais de *Spodoptera frugiperda* (terceira geração) com 6 ínstar mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,26 \pm 0,01$	0,20 - 0,29		$2,60 \pm 0,03$	2 - 3
2	$0,46 \pm 0,02$	0,34 - 0,68	1,77	$3,64 \pm 0,07$	1 - 7
3	$0,86 \pm 0,04$	0,73 - 1,07	1,87	$2,18 \pm 0,04$	1 - 4
4	$1,60 \pm 0,06$	1,34 - 2,00	1,86	$3,09 \pm 0,05$	1 - 4
5	$2,13 \pm 0,04$	2,02 - 2,59	1,33	$4,44 \pm 0,06$	2 - 6
6	$2,86 \pm 0,04$	2,62 - 3,22	1,34	$4,44 \pm 0,06$	2 - 6
Média da razão de crescimento			1,63		

A razão de crescimento das lagartas de *S. frugiperda* no milho convencional variou nas três gerações, sendo de 1,57; 1,27 e 1,61 respectivamente. No milho MON810, os valores da razão de crescimento foram de 1,61; 1,46 e 1,63 para as lagartas de 6 ínstaes, e de 1,61; 1,37 e 1,51 para lagartas de 7 ínstaes, nas três gerações, respectivamente. Assim, o crescimento do inseto, em ambos os substratos estudados, obedeceu à regra de Dyar, estando os valores compreendidos entre 1,1 a 1,9, conforme estabelecido por este autor (Dyar, 1890).

Tabela 13. Largura média da cápsula cefálica, razão de crescimento e duração dos ínstaes larvais de *Spodoptera frugiperda* (terceira geração) com 7 ínstaes mantidas em milho geneticamente modificado (MON810), à temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Ínstar	Largura da cápsula cefálica (mm)		Razão de crescimento	Duração (dias)	
	Média	Intervalo de variação		Média	Intervalo de variação
1	$0,26 \pm 0,01$	0,20 - 0,29		$2,60 \pm 0,03$	2 - 3
2	$0,46 \pm 0,02$	0,34 - 0,68	1,76	$3,64 \pm 0,07$	1 - 7
3	$0,86 \pm 0,04$	0,73 - 1,07	1,87	$2,18 \pm 0,04$	1 - 4
4	$1,23 \pm 0,04$	1,08 - 1,33	1,43	$2,69 \pm 0,05$	1 - 5
5	$1,60 \pm 0,06$	1,34 - 2,00	1,30	$3,09 \pm 0,05$	1 - 4
6	$2,13 \pm 0,04$	2,02 - 2,59	1,33	$4,44 \pm 0,06$	2 - 6
7	$2,86 \pm 0,04$	2,62 - 3,22	1,34	$4,44 \pm 0,06$	2 - 6
Média da razão de crescimento			1,51		

4.1.2 Fase de pré-pupa

A interação dos tratamentos (milho convencional e milho MON810) ao longo das gerações foi significativa ($F= 19,62$; $P= 0,0001$). A duração da fase de pré-pupa foi estatisticamente similar entre os tratamentos nas duas primeiras gerações (Tabela 14). Na terceira geração ocorreu diferença estatística entre os substratos alimentares, sendo tal período maior no milho MON810 em relação ao milho convencional. Este alongamento de 2,68 dias na fase de pré-pupa na terceira geração de laboratório pode ser um reflexo do efeito cumulativo anteriormente mencionado para a fase larval. Ferraz (1982), Mielitz et al. (1986) e Nalim (1991) observaram que o período de pré-pupa pode ser afetado pela qualidade nutricional do alimento.

Tabela 14. Duração e viabilidade da fase de pré-pupa de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração da fase de pré-pupa (dias)			
Milho convencional	$3,60 \pm 0,34$ a A ¹	$3,75 \pm 0,40$ a B	$4,10 \pm 0,30$ a AB
MON810	$4,10 \pm 0,48$ a A	$4,20 \pm 0,47$ a A	$6,78 \pm 1,04$ b B
Viabilidade (%)			
Milho convencional	95,44	85,49	96,75
MON810	85,71	77,63	80,70

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Devido ao efeito deletério da proteína Cry1Ab observou-se menor viabilidade de pré-pupa no milho MON810 em relação ao milho convencional, ao longo das três gerações.

4.1.3 Fase de pupa

A interação duração do período de pupa (fêmeas) e substrato alimentar (milho convencional e milho MON810) foi significativa ($F= 7,22$; $P= 0,0008$). A duração do período pupal de fêmeas foi de 7,5; 8,7 e 8,0 dias no milho convencional e de 8,1; 8,7 e 8,2 dias no milho MON810, respectivamente para as consecutivas gerações (Tabela 15). Apesar da ação da proteína Cry1Ab na fase larval, conforme discutido anteriormente, a duração da fase de pupa foi similar, entre os tratamentos, nas duas últimas gerações. Ao contrário do observado para a fase de pré-pupa, em que ocorreram diferenças, indicando o efeito desta proteína na terceira geração de *S. frugiperda* criada em laboratório, o mesmo não ocorreu para a fase de pupa.

Dew (1913), Fonseca (1943) e Lucchini (1977), estudando a biologia de *S. frugiperda* em substratos naturais, observaram um período pupal maior do que o obtido nesta pesquisa, para o milho convencional. As condições ambientais distintas dos estudos, provavelmente, determinaram tais diferenças.

Tabela 15. Duração e viabilidade da fase de pupa de fêmeas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração da fase de pupa fêmea (dias)			
Milho convencional	$7,49 \pm 0,06$ b A ¹	$8,69 \pm 0,13$ a B	$7,99 \pm 0,06$ a C
MON810	$8,04 \pm 0,08$ a A	$8,69 \pm 0,13$ a B	$8,19 \pm 0,18$ a A
Viabilidade (%)			
Milho convencional	95,59	97,28	97,96
MON810	89,47	87,50	93,48

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Ao longo das gerações no milho convencional houve diferença para o período pupal de fêmeas. No milho MON810, a duração desta fase em F₂ foi estatisticamente igual a de F₃, que por sua vez foi igual à de F₁, demonstrando desta forma a não interferência da proteína Cry1Ab na duração da fase pupal. Por outro lado, aparentemente a proteína Cry1Ab afetou a mortalidade pupal, pois as viabilidades desta fase foram maiores quando o inseto foi criado no milho convencional, em torno de 6% (Tabela 15).

A interação de milho e gerações para pupa macho foi significativa ($F = 3,32$; $P = 0,0371$). A duração do período pupal de machos foi estatisticamente igual para o inseto criado em milho convencional e MON810 nas gerações F₂ e F₃ (Tabela 16). Observaram-se períodos pupais de 8,6; 9,7 e 9,1 dias no milho convencional e de 9,1; 9,7 e 9,0 dias no milho MON810, respectivamente para F₁, F₂ e F₃. Ao longo das gerações não se observaram diferenças estatísticas entre F₁

e F₃, demonstrando que não houve efeito dos substratos alimentares, ao longo das gerações para o período pupal de machos. Por outro lado, a viabilidade, da mesma forma que já observado para fêmeas (Tabela 15) foi sempre inferior no milho MON810, ocorrendo um aparente efeito da proteína Cry1Ab, sobre a mortalidade desta fase de desenvolvimento de *S. frugiperda*.

Tabela 16. Duração e viabilidade da fase de pupa de machos de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de 28 ± 1°C, UR de 60 ± 10% e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração da fase de pupa de machos (dias)			
Milho convencional	8,61 ± 0,06 b A ¹	9,72 ± 0,13 a B	9,06 ± 0,06 a C
MON810	9,13 ± 0,08 a AB	9,72 ± 0,13 a A	8,98 ± 0,18 a B
Viabilidade (%)			
Milho convencional	98,09	96,05	97,44
MON810	96,77	87,62	86,96

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Para ambos os tratamentos (milho convencional e MON810) observou-se que o período pupal de machos foi maior do que o período pupal de fêmeas (Tabelas 15 e 16). A diferença na duração deste período entre sexos já tinha sido observada anteriormente por Pencoe & Martin (1953) e Melo & Silva (1987), criando o inseto em substratos naturais, e por Parra & Carvalho (1984), Mielitz et al. (1986) e Nalim (1991) utilizando dieta artificial.

4.1.3.1 Peso de pupa

A análise estatística foi significativa para a interação dos tratamentos (milho convencional e MON810) no decorrer das três gerações estudadas ($F=84,41$; $P=0,0001$). O peso das pupas de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) no milho convencional foi significativamente maior do que aquele obtido para pupas criadas no milho MON810, em todas as gerações (Tabela 17).

Tabela 17. Peso médio de pupas (macho e fêmea) e razão sexual de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Peso médio (mg)			
Milho convencional	$204,8 \pm 1,7$ a A ¹	$180,8 \pm 1,8$ a B	$188,7 \pm 1,4$ a B
MON810	$142,2 \pm 2,5$ b A	$140,8 \pm 3,2$ b A	$161,1 \pm 3,6$ b B
Razão sexual²			
Milho convencional	0,47	0,50	0,49
MON810	0,55	0,58	0,50

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

² Razão sexual = fêmeas/fêmeas + machos.

Ao longo das três gerações observou-se diferença estatística para o peso de pupas de *S. frugiperda* criada em milho convencional e em MON810.

A interação do substrato alimentar e geração também foi significativa para o peso de pupas fêmeas ($F= 7,22$; $P= 0,0001$) e pupas machos ($F= 3,32$; $P= 0,0371$), com resultados similares aos observados aos dados médios, incluindo fêmea e machos (Tabela 18).

Tabela 18. Peso médio de pupas (fêmeas e machos) de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Peso médio (mg) - pupa (fêmea)			
Milho convencional	$199,2 \pm 2,6$ a A ¹	$187,7 \pm 2,4$ a B	$187,5 \pm 2,1$ a B
MON810	$138,3 \pm 3,0$ b A	$137,8 \pm 4,4$ b A	$156,8 \pm 4,6$ b B
Peso médio (mg) - pupa (macho)			
Milho convencional	$209,7 \pm 2,2$ a A ¹	$185,8 \pm 2,5$ a B	$189,8 \pm 1,9$ a B
MON810	$147,0 \pm 4,0$ b A	$145,8 \pm 4,5$ b A	$165,4 \pm 5,4$ b B

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

A influência da qualidade do substrato no peso das pupas foi observada por vários autores (Pencoe & Martin, 1981; Pitre & Hogg, 1983; Parra & Carvalho, 1984; Melo & Silva, 1987; Vendramim & Fancelli, 1988 e Nalim, 1991), estudando o efeito de substratos naturais e dietas artificiais neste parâmetro biológico de *S. frugiperda*.

Williams et al. (1997), Meyers et al. (1997) e Buntin et al. (2001) observaram que o peso de lagartas de lepidópteros, como *S. frugiperda*,

alimentadas com milho geneticamente modificado, foi menor do que aquelas alimentadas em milho convencional. Desde que o peso das lagartas foi menor no milho geneticamente modificado, nos estudos efetuados pelos citados autores, é possível inferir que o peso das pupas obtidas também seria menor, uma vez que este parâmetro é diretamente afetado pelo aproveitamento nutricional do alimento pelas lagartas (Parra & Carvalho, 1984; Crócomo & Parra, 1985; Nalim, 1991). Assim, o menor peso de pupas alimentadas no milho MON810, registrado na presente pesquisa, refletiu a ação da proteína Cry1Ab nas lagartas, conforme já discutido anteriormente.

Por outro lado, os tratamentos (milho convencional e MON810) não afetaram a razão sexual de *S. frugiperda*, nas três gerações estudadas (Tabela 17), resultados estes coincidentes àqueles obtidos por Giles et al. (2000). Estes autores avaliando o efeito de grãos de milho geneticamente modificado (poteínas Cry1Ab e Cry1Ac e Cry9C) na biologia de *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) não observaram qualquer efeito sobre a razão sexual desta espécie.

Os valores obtidos para a razão sexual, na presente pesquisa, são próximos a 0,50, valor normalmente encontrado para a espécie em dietas naturais e artificiais (Ferraz, 1982; Nalim, 1991).

4.1.4 Fase adulta

4.1.4.1 Longevidade

Houve interação significativa dos substratos alimentares (milho convencional e MON810) e gerações, quanto à longevidade de fêmeas e machos de *S. frugiperda* ($F= 5,84$; $P= 0,0039$ para fêmea e $F= 11,90$; $P= 0,0001$ para macho). A longevidade das fêmeas e machos foi significativamente maior nas duas primeiras gerações (Tabela 19). Na última geração, embora menor, a longevidade para ambos os sexos, foi estatisticamente semelhante. Apesar da ação deletéria da proteína Cry1Ab nas fases imaturas deste lepidóptero, conforme discutido anteriormente, os adultos provenientes do milho MON810 tiveram longevidade similar àqueles oriundos do milho convencional, após duas gerações.

No milho MON810 a longevidade dos adultos (fêmeas e machos) não diferiu estatisticamente, ao longo das gerações, indicando a não interferência da planta transformada neste parâmetro biológico para os insetos sobreviventes (Tabela 19).

A longevidade das fêmeas foi maior em ambos os tratamentos, fenômeno já referido por outros autores quando o inseto foi criado em dieta artificial (Kasten et al., 1978 e Nalim, 1991).

A longevidade de fêmeas e machos observada em milho convencional é próxima àquela obtida por Velez & Sifuentes (1967) e Nalim (1991) para insetos mantidos em substrato natural (folha de milho) e em dieta artificial, respectivamente.

Tabela 19. Longevidade de adultos (fêmea e macho) de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Longevidade (dias) – fêmea			
Milho convencional	$15,00 \pm 0,81$ a A ¹	$14,20 \pm 0,78$ a A	$12,35 \pm 0,88$ a A
MON810	$10,55 \pm 0,68$ b A	$10,90 \pm 0,96$ b A	$13,21 \pm 0,92$ a A
Longevidade (dias) – macho			
Milho convencional	$13,40 \pm 0,46$ a A ¹	$13,15 \pm 0,51$ a A	$10,53 \pm 0,68$ a B
MON810	$10,15 \pm 0,63$ b A	$8,65 \pm 0,54$ b A	$11,31 \pm 0,75$ a A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.1.4.2 Duração dos períodos de pré-oviposição e oviposição

Não houve interação significativa dos substratos alimentares (milho convencional e MON810) para o período de pré-oviposição, ao longo das gerações (F=0,65; P= 0,5242) (Tabela 20). As fêmeas provenientes do milho convencional apresentaram em média 3,8 dias para este período, sendo de 4,6 dias para o inseto mantido em milho MON810. Estes valores estão dentro dos limites citados por Escalante (1974), quando este lepidóptero foi criado em substratos naturais. Dificilmente este parâmetro biológico é afetado pela

qualidade nutricional do alimento, por ser um período geralmente curto (Parra¹).

Tabela 20. Duração do período de pré-oviposição de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Período de pré-oviposição (dias)			
Milho convencional	$3,60 \pm 0,34$ a A ¹	$3,75 \pm 0,40$ a A	$4,10 \pm 0,30$ a A
MON810	$4,10 \pm 0,48$ a A	$4,20 \pm 0,47$ a A	$5,36 \pm 0,36$ a A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A interação substratos alimentares e gerações foi significativa ($F = 3,76$; $P = 0,0264$) para o período de oviposição. Para este parâmetro houve diferença estatística entre os dois substratos alimentares, apenas em F₁ (Tabela 21). Na demais gerações o período de oviposição foi estatisticamente similar, demonstrando a não interferência dos substratos alimentares no mesmo.

¹ PARRA, J.R.P. Comunicação pessoal, 2003.

No decorrer das gerações, observou-se que houve diferença estatística das gerações F₂ e F₃ em relação a F₁, em relação ao período de oviposição, em ambos os substratos alimentares. Assim, tem-se que estas diferenças foram promovidas provavelmente por fatores ambientais ou genéticos, e não propriamente devido à proteína Cry1Ab, presente no milho MON810.

Tabela 21. Duração do período de oviposição de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração de oviposição (dias)			
Milho convencional	$3,85 \pm 0,59$ a A ¹	$1,90 \pm 0,28$ a B	$1,35 \pm 0,18$ a B
MON810	$3,25 \pm 0,46$ b A	$2,00 \pm 0,28$ a B	$1,71 \pm 0,30$ a B

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.1.4.3 Postura e acasalamento

A interação substrato alimentar e geração não foi significativa ($F = 1,83$; $P = 0,1659$) para o número médio de posturas. Este parâmetro foi estatisticamente diferente apenas na primeira geração entre milho convencional

e MON810 (Tabela 22). Nas duas últimas gerações não houve diferença estatística do número médio de posturas, entre ambos os substratos alimentares.

Tabela 22. Número médio de posturas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Número médio de postura			
Milho convencional	11,05 $\pm$ 1,32 a A ¹	4,60 $\pm$ 0,61 a B	2,60 $\pm$ 0,35 a B
MON810	5,25 $\pm$ 0,73 b A	2,55 $\pm$ 0,33 a B	1,93 $\pm$ 0,31 a B

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Apesar da redução gradativa, no decorrer das gerações, do número de posturas, observou-se que este fato ocorreu em ambos os tratamentos. Assim, conforme discutido anteriormente, aspectos do ambiente e genéticos provavelmente contribuíram para a obtenção destes resultados, sem ocorrer a influência da proteína *Bt* do milho MON810.

A interação substrato alimentar e geração para o número médio de ovos por postura foi não significativa (F= 0,70; P= 0,4981). O número médio de ovos por postura, porém, foi estatisticamente similar entre substratos alimentares, dentro das distintas gerações. Todavia, ocorreu para ambos os substratos alimentares diferenças estatísticas ao longo das três gerações estudadas (Tabela 23). O número médio de ovos obtidos no presente estudo ao longo das gerações

(204,1 e 194,5 ovos/postura em milho convencional e MON810, respectivamente) foi similar ao observado por Lucchini (1977) e inferior ao descrito por Dew (1913), também em substrato alimentar à base de folha de milho.

Tabela 23. Número médio de ovos por postura de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Número médio de ovos por postura			
Milho convencional	104,52 $\pm$ 13,56 a A ¹	188,38 $\pm$ 26,35 a B	319,43 $\pm$ 29,10 a C
MON810	81,82 $\pm$ 17,16 a A	185,22 $\pm$ 33,93 a B	316,47 $\pm$ 45,66 a C

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A análise estatística para a interação quanto ao número total de ovos de *S. frugiperda*, nos dois substratos no decorrer das gerações, foi significativa (F= 5,18; P= 0,0071). Nas três gerações o número total de ovos foi significativamente maior no milho convencional do que no milho MON810 (Tabela 24).

Tabela 24. Total de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Total de ovos			
Milho convencional	990,70 $\pm$ 105,76 a A ¹	661,10 $\pm$ 55,33 a A	733,30 $\pm$ 89,99 a A
MON810	345,75 $\pm$ 52,63 b A	369,60 $\pm$ 45,88 b A	566,36 $\pm$ 91,47 b A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

O número médio de espermatóforos foi semelhante para os substratos alimentares (milho convencional e MON810). Assim, os resultados mostraram que a proteína Cry1Ab, presente nas folhas do milho MON810 não afetou o comportamento de acasalamento deste noctuídeo, pois foram observados ao longo das gerações, em termos médios, 2 espermatóforos/fêmea em ambos os substratos. Estes resultados são similares aos observados por Burton & Perkins (1972) e Nalim (1991) em insetos criados em dieta artificial.

No milho convencional, entretanto, ocorreu o maior número de cópulas em F₁. Este resultado pode explicar o maior número total de ovos observados no milho convencional nesta geração (Tabela 24), pois como cada espermatóforo corresponde a uma cópula, em F₁, houve uma cópula a mais em relação às demais gerações neste substrato (Tabela 25).

Tabela 25. Número médio de espermatozóides de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Número médio de espermatozóides			
Milho convencional	3,50	2,00	2,22
MON810	2,60	1,92	2,23

4.1.5 Fase de ovo

Não houve interação significativa para o período de incubação nos distintos tratamentos (milho convencional e MON810) e gerações ($F = 1,42$; $P = 0,2493$). O período médio de incubação foi estatisticamente igual nos dois substratos alimentares, sendo de 2,7 e 2,6 dias no milho convencional e MON810, respectivamente, ao longo das gerações estudadas. Os dados obtidos, nesta pesquisa, são similares aos observados por Burton & Perkins (1972) e Nalim (1991) em insetos criados em dieta artificial.

Assim como para o período de incubação, não houve interação significativa para a viabilidade dos ovos provenientes de fêmeas mantidas no milho convencional e MON810, nas distintas gerações estudadas ($F = 0,36$; $P = 0,6983$). As viabilidades médias dos ovos dos insetos criados nos dois

Tabela 26. Período médio de incubação e viabilidade de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Período médio de incubação (dias)			
Milho convencional	2,55 $\pm$ 0,19 a A ¹	2,93 $\pm$ 0,11 a A	2,69 $\pm$ 0,12 a A
MON810	2,43 $\pm$ 0,15 a A	2,55 $\pm$ 0,14 a A	2,77 $\pm$ 0,12 a A
Viabilidade de ovos (%)			
Milho convencional	20,18 $\pm$ 6,44 a A ¹	18,41 $\pm$ 4,27 a A	23,95 $\pm$ 3,44 a A
MON810	16,98 $\pm$ 5,55 a A	19,26 $\pm$ 6,61 a A	15,93 $\pm$ 4,63 a A

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

substratos alimentares foram de 20,9 e 17,4% para o milho convencional e MON810, respectivamente, não ocorrendo diferença estatística dentro e entre gerações (Tabela 26). A viabilidade obtida, independentemente do substrato alimentar, na presente pesquisa foi baixa, quando comparada à viabilidade de 51,2% obtida por Lucchini (1977) em *S. frugiperda* mantida em milho, a 25°C ou por outros autores em meios naturais e artificiais (Pencoe & Martin, 1981; Pitre & Hogg, 1983; Nalim, 1991).

Segundo Ferraz (1982) a viabilidade de ovos de *S. frugiperda* é decrescente em função da elevação térmica. O autor observou redução no número de posturas e viabilidade dos ovos deste lepidóptero a 30°C . Como a presente pesquisa foi realizada a 28°C , provavelmente a temperatura possa ter algum efeito na redução da viabilidade dos ovos em ambos os tratamentos.

4.1.6 Deformação em pupas e adultos

A inadequação ou deficiência nutricional de um substrato natural ou dieta artificial pode ser medida por deformações em pupas e adultos. A deformação das pupas foi caracterizada pelo alongamento dos segmentos abdominais ou aspecto atípico da região da cabeça. No adulto, a deformação foi caracterizada por anomalias nas asas. De forma geral, ocorreu baixa porcentagem de pupas e adultos (machos e fêmeas) com deformação (Tabela 27). A proteína Cry1Ab não afetou, portanto, as características morfológicas externas de pupas e adultos de *S. frugiperda*.

4.1.7 Ciclo total (ovo a adulto)

A duração média do período ovo-adulto variou entre os insetos mantidos em milho convencional e MON810. Na média, este período variou de 26,1 dias no milho convencional a 32,0 dias no milho MON810. Assim, o período ovo-adulto foi, em média, 5,9 dias maior nos insetos que completaram o ciclo no milho MON810, em comparação àqueles provenientes do milho convencional (Tabela 28). A viabilidade total média foi de 13,4 e 4,2% no milho convencional e MON810, respectivamente. Apesar dos baixos valores, a viabilidade para o ciclo total de *S. frugiperda* no milho convencional foi 3,2 vezes superior ao observado no milho MON810 (Tabela 28).

Tabela 27. Deformação de pupas e adultos de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F₁	F₂	F₃
Deformação de pupas (%)			
Milho convencional	0,34	3,61	0
MON810	0	2,54	1,09
	Gerações		
	F₁	F₂	F₃
Deformação de adultos (%) – fêmea			
Milho convencional	1,45	1,48	2,04
MON810	1,30	1,49	0
	Gerações		
	F₁	F₂	F₃
Deformação de adultos (%) – macho			
Milho convencional	0	0	2,56
MON810	0	2,08	2,17

Conforme discutido anteriormente, provavelmente a temperatura pode ter sido um componente importante na redução da viabilidade dos ovos, e por conseguinte contribuído para a obtenção de baixos valores da viabilidade total no milho convencional. No milho MON810 a baixa viabilidade total, menor que no milho convencional, é reflexo além da influência da temperatura, da baixa viabilidade larval e de pré-pupa (Tabelas 4 e 14).

Tabela 28. Duração do período de ovo - adulto e viabilidade total de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Duração do período ovo - adulto (dias)			
Milho convencional	25,00	27,30	26,10
MON810	30,40	31,40	34,30
Viabilidade total (%)			
Milho convencional	13,20	11,10	16,00
MON810	5,00	4,50	3,10

A duração do ciclo total no milho convencional (média de 26,1 dias), obtido na presente pesquisa, foi inferior ao observado por Velez & Sifuentes (1967). Estes autores relataram que *S. frugiperda* completou o ciclo total em 32 dias, em folhas de milho, a 27°C . Este valor, portanto, é similar ao observado para o milho MON810. Conforme discutido, o período de desenvolvimento do inseto pode ser afetado pelas qualidades nutricionais do alimento e condições do ambiente. Na presente pesquisa, o mesmo híbrido (DKB909) foi utilizado como substrato alimentar para o milho convencional e MON810. O milho geneticamente modificado MON810 difere do convencional pelo fato de ter na folhas a proteína Cry1Ab (Armstrong et al., 1985). Assim, esta proteína *Bt* prejudicou o desenvolvimento das fases imaturas de *S. frugiperda*, alongando as mesmas, conforme discutido anteriormente, e levando, como consequência, a um maior período para o ciclo biológico do inseto. Sedlacek et al. (2001) também observaram o alongamento do ciclo biológico das espécies *P. interpunctella* e

Sitotroga cerealella (Olivier, 1819), quando os insetos foram alimentados em grãos de milho geneticamente modificados (que expressam proteínas *Bt*).

Os resultados obtidos, portanto, demonstraram que a proteína Cry1Ab, presente no milho MON810, afeta o desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, conforme relatado por Williams et al. (1997) e Lynch et al. (1999).

4.1.8 Tabela de vida de fertilidade

Através da elaboração de tabela de vida de fertilidade de *S. frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), observou-se que a taxa líquida de reprodução (R_0) e razão finita de aumento (λ) foram maiores, nas três gerações, para insetos mantidos em milho convencional (Tabela 29). O período necessário para completar uma geração (T) foi menor para os insetos mantidos no milho convencional (30,4; 32,5 e 31,3 dias, respectivamente para F_1 , F_2 e F_3) do que no milho MON810 (35,9; 36,0 e 39,2 dias, respectivamente para F_1 , F_2 e F_3).

Os insetos alimentados no milho convencional apresentaram R_0 6,3; 4,0 e 6,6 vezes maior, respectivamente para F_1 , F_2 e F_3 , em relação àqueles mantidos no milho MON810. Portanto o crescimento populacional de *S. frugiperda* no milho MON810 foi menor do que no milho convencional, nas três gerações avaliadas, ou seja, enquanto no milho convencional a população aumenta 61,5; 36,7 e 57,5 vezes para F_1 , F_2 e F_3 , no milho geneticamente modificado este aumento é de apenas 9,7; 9,2 e 8,8 vezes, respectivamente (Tabela 29).

De forma a tornar mais evidente as diferenças, entre tratamentos, em relação a λ , este valor foi elevado a 30,4 tomando como referência o período do

ciclo total do inseto observado em F₁ no milho convencional. Os resultados indicaram o número de fêmeas que as fêmeas mantidas nos dois substratos alimentares (milho convencional e MON810) poderiam adicionar à população, no mesmo período de tempo. Assim, seriam incorporados à população 90; 31 e 54 fêmeas quando *S. frugiperda* for mantida em milho convencional, nas três gerações, e 8; 6 e 6 fêmeas, respectivamente nas três gerações, quando o inseto for mantido em milho MON810. Desta forma, com base nos cálculos apresentados ocorreria uma redução populacional de fêmeas de 91,1; 80,7 e 88,9% para o inseto mantido no milho MON810.

Tabela 29. Taxa líquida de reprodução (Ro), duração média das distintas gerações (T), capacidade inata de aumento em número (rm), razão finita de aumento (λ) de *Spodoptera frugiperda*, em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura: $28 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $60 \pm 10\%$ e Fotofase de 14 h.

Tratamento	Ro	T (dias)	rm	λ	N ¹
<i>Geração 1</i>					
Milho convencional	61,51	30,40	0,14	1,15	20
MON810	9,72	35,91	0,06	1,07	20
<i>Geração 2</i>					
Milho convencional	36,69	32,51	0,11	1,12	20
MON810	9,15	36,00	0,06	1,06	20
<i>Geração 3</i>					
Milho convencional	57,49	31,30	0,13	1,14	20
MON810	8,78	39,21	0,06	1,06	14

¹ Número de casais observados.

4.1.9 Canibalismo de *S. frugiperda* em milho convencional e MON810

As lagartas de *S. frugiperda* apresentaram comportamento canibal em ambos os substratos alimentares utilizados conforme relatado por diversos autores em estudos com dietas artificiais e substratos naturais (Escalante, 1974; Fox, 1975a e b; Joyner & Gould, 1985; Raffa, 1987 e Nalim, 1991).

A mortalidade foi crescente no milho convencional com o aumento da densidade populacional, sendo de 50,0; 54,2; 62,5 e 62,5%, respectivamente para 2, 3, 4 e 5 lagartas por recipiente. No milho MON810, o mesmo ocorreu, sendo que a mortalidade variou entre 66,7 e 82,0%, sendo que o maior valor foi obtido na maior densidade populacional (Tabela 30).

A viabilidade foi alta em ambos os substratos alimentares na densidade populacional de uma lagarta por recipiente (80 e 100%, respectivamente para o milho convencional e MON810) (Tabela 30, Figura 8). Nalim (1991) encontrou viabilidades similares para esta densidade populacional, em milho e dieta artificial, confirmando os resultados da presente pesquisa.

Nas demais densidades populacionais observaram-se viabilidades de 50,0; 50,0; 45,8; 37,5 e 37,5% no milho convencional e 30,0; 33,3; 25,0 e 18,0% no milho MON810. Observou-se, portanto, que com o aumento da densidade populacional, ocorreu a diminuição da viabilidade, em ambos os substratos, em relação ao padrão de 1 lagarta por recipiente. Segundo observações de Fox (1975a), Polis (1981), Joyner & Gould (1985 e 1987) e Raffa (1987), com outras espécies, à medida que ocorre o aumento do número de indivíduos em recipientes de criação, independente do substrato alimentar, o comportamento canibal é mais acentuado.

Tabela 30. Canibalismo em lagartas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes densidades populacionais. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Densidade populacional	Mortalidade corrigida (%)¹	Viabilidade (%)
Milho convencional	1	-	80,0
Milho convencional	2	50,0	50,0
Milho convencional	3	54,2	45,8
Milho convencional	4	62,5	37,5
Milho convencional	5	62,5	37,5
MON810	1	-	100,0
MON810	2	70,0	30,0
MON810	3	66,7	33,3
MON810	4	75,0	25,0
MON810	5	82,0	18,0

¹ Viabilidade corrigida em relação ao tratamento uma lagarta por recipiente pela fórmula de Abbott.

Nalim (1991) observou viabilidade de 50; 47 e 30% para as densidades populacionais de 2, 3 e 4 lagartas por recipiente utilizando como substrato alimentar o milho. Estes valores são próximos aos obtidos em milho convencional na presente pesquisa.

Comparando-se as viabilidades entre os substratos (Figura 8), observou-se que a viabilidade é menor, para todas as densidades populacionais no milho MON810, em relação àquela obtida no milho convencional. Segundo Crócomo

& Parra (1985) e Raffa (1987) o canibalismo de *S. frugiperda* em milho decorreu da inadequação nutricional desta planta a esta espécie.

Figura 8 - Viabilidade de lagartas *Spodoptera frugiperda* criadas em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em grupos com diferentes densidades populacionais. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Considerando-se, conforme já discutido, que na presente pesquisa as plantas utilizadas tratavam-se do mesmo híbrido (DKB909) para o milho convencional e MON810, os insetos dos diferentes tratamentos receberam a mesma base nutricional, pois Sanders et al. (1998) relataram que o milho geneticamente modificado MON810 é equivalente ao milho convencional em suas características físicas e químicas. Assim, como o canibalismo de *S. frugiperda* foi mais acentuado no milho MON810, tem-se que a proteína Cry1Ab,

componente diferencial em relação ao milho convencional, foi o fator determinante do incremento do comportamento canibal deste lepidóptero.

4.1.10 Consumo foliar e alimentação quantitativa

Não houve interação significativa para o consumo de área foliar de milho convencional e geneticamente modificado (MON810) nas distintas gerações ($F= 0,11$; $P= 0,8935$). O consumo médio de área foliar por lagartas de *S. frugiperda* em milho convencional ($210,7 \text{ cm}^2$) foi significativamente maior que em milho MON810 ($171,2 \text{ cm}^2$) nas gerações estudadas (Tabela 31). Não observou-se diferenças estatísticas do consumo foliar ao longo das três gerações nos distintos tratamentos. Estes resultados demonstraram que as lagartas de *S. frugiperda*, ingeriram diferentes quantidades de folha, em função do substrato alimentar (milho convencional e geneticamente modificado).

A área foliar de milho convencional consumida por *S. frugiperda* nesta pesquisa (média de $210,6 \text{ cm}^2$) é menor do que a observada por Crócomo & Parra (1985) ($241,43 \text{ cm}^2$), também na mesma cultura. Apesar do maior consumo de *S. frugiperda* concentrar-se nos últimos ínstaes, esperar-se-iam diferenças entre o obtido e o observado por aqueles autores, uma vez que os mesmos quantificaram o consumo total em todos os ínstaes deste lepidóptero, e na presente pesquisa avaliou-se o consumo do 3º. ao 6º. ínstaes. Cabe ressaltar também que o consumo do alimento por insetos pode variar em função do estágio fenológico da planta e das características físico-químicas das folhas (Kogan, 1975; Crócomo & Parra, 1985). Assim, para diferentes híbridos é possível que o consumo pelos insetos ocorra em quantidades diferentes.

Tabela 31. Consumo de área foliar de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), durante três gerações de laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Gerações		
	F ₁	F ₂	F ₃
Consumo foliar (cm ²)			
Milho convencional	201,44 $\pm$ 5,12 a A ¹	215,58 $\pm$ 6,10 a A	214,98 $\pm$ 6,24 a A
MON810	164,67 $\pm$ 4,44 b A	171,50 $\pm$ 7,15 b A	177,48 $\pm$ 5,38 b A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Apesar do alongamento do ciclo biológico de *S. frugiperda* no milho geneticamente modificado (MON810), a digestibilidade aparente (AD) e eficiência do alimento consumido (ECI) pelas lagartas de *S. frugiperda* foi estatisticamente semelhante entre este substrato e o milho convencional. Todavia, o consumo do alimento digerido (ECD) e custo metabólico foram significativamente diferentes entre ambos (Tabela 32). Não houve diferença estatística de ECI para ambos os substratos, demonstrando que os alimentos ingeridos foram convertidos de maneira semelhante em energia para o metabolismo e em biomassa pelas lagartas de *S. frugiperda*.

As lagartas alimentadas com folhas do milho MON810 converteram o alimento digerido em biomassa (ECD), no entanto, com eficiência significativamente menor do que as que consumiram o milho convencional. Assim, o custo metabólico com a utilização do milho MON810 foi maior,

diferindo estatisticamente do milho convencional, demonstrando a inadequação nutricional do milho geneticamente modificado para *S. frugiperda*.

Tabela 32. Digestibilidade aparente (AD), eficiência de conversão do ingerido (ECI), eficiência de conversão do digerido (ECD) e custo metabólico de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) do terceiro ao sexto instares. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	AD (%)	ECI (%)	ECD (%)	Custo metabólico (%)
Milho convencional	$42,80 \pm 2,51 \text{ a}^1$	$22,25 \pm 1,29 \text{ a}$	$50,49 \pm 1,92 \text{ a}$	$52,86 \pm 2,93 \text{ b}$
MON810	$42,43 \pm 2,03 \text{ a}$	$20,72 \pm 1,61 \text{ a}$	$39,08 \pm 3,42 \text{ b}$	$60,92 \pm 3,42 \text{ a}$

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.2 Avaliação do efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação e dano de *S. frugiperda*

4.2.1 Efeito do nível de infestação de *S. frugiperda*, em diferentes estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810), nos danos da praga

A análise estatística de interação dos fatores principais (milho, estágio fenológico e densidade populacional), quanto ao número de lagartas de *S. frugiperda* nas plantas, foi significativa para os fatores milho e densidade

populacional, nas duas épocas de plantio (Tabela 33). Estes resultados demonstraram que houve diferença entre tratamentos (milho convencional e MON810) quanto a sobrevivência das lagartas nas plantas, nas distintas densidades populacionais estudadas. Assim, houve menor sobrevivência de

Tabela 33. Interação do milho convencional e MON810, quanto ao número de lagartas sobreviventes, em diferentes estádios fenológicos e densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda* aos dez dias de infestação da praga. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fator	Verão	Safrinha
	deviance ¹	
Milho	78,95 *	69,41 *
Estádio fenológico	4,79 *	4,04 ns
Densidade populacional	63,55 *	51,31 *
Milho vs estágio fenológico	1,61 ns	16,98 *
Milho vs densidade populacional	2,84 ns	2,03 ns
Estádio fenológico vs densidade populacional	3,44 ns	0,71 ns
Milho vs estágio fenológico vs densidade populacional	0,24 ns	1,60 ns

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pela técnica de contraste (P<0,05).

lagartas no milho MON810, tanto na safra de verão como no milho safrinha, em relação ao milho convencional, mostrando a efetividade da proteína Cry1Ab no controle das mesmas (Figura 9). Aos 10 dias após a infestação observou-se, em média, no máximo 0,2 lagarta por planta no milho MON810, enquanto no milho convencional havia 0,8 lagarta por planta. A redução populacional de lagartas

de *S. frugiperda* observada no presente estudo confirma as observações efetuadas anteriormente por outros autores (Williams, 1997; Lynch et al., 1999; Buntin et al., 2001 e Martinelli, 2001). As proteínas *Bt*, expressas em plantas geneticamente modificadas, controlam as lagartas pois promovem prejuízos irreversíveis ao tecido epitelial do tubo digestivo das mesmas, determinando seu controle (Meyers et al., 1995).

O desdobramento das densidades populacionais 5, 10 e 15 lagartas por planta revelou que não ocorreram diferenças significativas entre a densidade populacional zero (sem infestação) e as demais (Tabela 34). No milho MON810, ao contrário do observado no milho convencional, no entanto, a sobrevivência de lagartas foi menor (Figura 9). Apesar de não infestado, os tratamentos com densidade populacional zero, apresentaram algumas plantas com presença de lagartas (0,03 e 0,06 lagarta por planta em milho convencional e MON810, respectivamente). A migração de lagartas *S. frugiperda* para o interior do telado, oriundas de posturas na porção externa do mesmo justificam a presença das lagartas nas plantas. De qualquer forma a população de lagartas era muito baixa neste tratamento, sendo esperadas as diferenças registradas entre este e os demais tratamentos, visto tratar-se de referência no presente estudo.

Em ambos os ensaios (verão e safrinha), considerando-se a porcentagem de plantas com lesões no cartucho, houve interações significativas para os fatores principais (milho, estágio fenológico e densidade populacional) aos 5, 10 e 15 dias após a infestação (DAI) de *S. frugiperda* (Tabela 35). As interações duplas ocorreram principalmente para os fatores milho vs estágio fenológico e estágio fenológico vs densidade populacional.

Figura 9 - Avaliação do número de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após dez dias da infestação em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes densidades populacionais da praga e estágio fenológico da cultura. Santa Cruz das Palmeiras, SP, safra 1999/2000.

As análises mostraram diferenças estatísticas entre o milho convencional e MON810, para todas as avaliações (Tabela 36). O milho MON810 determinou redução populacional de *S. frugiperda*, conforme discutido anteriormente, ocorrendo, portanto, menor porcentagem de plantas com danos no cartucho. Estes dados corroboram com os obtidos por Buntin et al. (2000), Williams et al. (1997) e Lynch et al. (1999), que observaram significativa redução populacional de *S. frugiperda* em milhos geneticamente modificados, inclusive no milho MON810, determinando menor intensidade de dano nas folhas.

Tabela 34. Contraste para o fator densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* aos dez dias de infestação da praga, quanto ao número de lagartas. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Contraste (densidade populacional)	Verão	Safrinha
	Número de lagartas	
0	0,63 ± 0,16 a ¹	0,50 ± 0,22 a
5	2,06 ± 0,54 b	2,81 ± 0,62 b
10	4,19 ± 0,98 b	3,75 ± 0,94 b
15	4,69 ± 0,96 b	5,00 ± 1,25 b

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pela técnica de contraste (P < 0,05).

Quanto ao estágio fenológico ocorreu diferença estatística apenas nas duas primeiras datas de avaliação no plantio de verão. Para o fator densidade populacional, nas duas épocas de plantio, ocorreram diferenças estatísticas, na maioria das avaliações, indicando a influência do número de lagartas nas plantas quanto ao nível de danos nas mesmas (Tabela 36).

A análise da interação milho vs estágio fenológico demonstrou menor porcentagem de plantas com dano no cartucho do que no milho convencional, o que indicou a efetividade da proteína Cry1Ab na proteção das plantas de milho MON810 em relação aos danos de *S. frugiperda* (Tabela 37).

Os resultados da análise da interação milho vs densidade populacional mostraram que a porcentagem de plantas com danos no cartucho foi crescente em função da densidade populacional. Entretanto, no milho MON810 as maiores porcentagens de plantas com dano foram 25,5 e 26,5% na safra de verão e safrinha, respectivamente, para a maior densidade populacional. No milho convencional estes índices, na densidade de 15 lagartas por planta, foram de 73 e 86%, respectivamente na safra de verão e safrinha (Tabela 38).

Tabela 35. Interação do milho convencional e MON810, em diferentes estádios fenológicos e densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda*, para porcentagem de plantas com danos. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fatores principais	Verão		
	dias após infestação		
	5	10	15
	<i>deviance</i> ¹		
Milho	308,06 *	216,11 *	303,77 *
Estádio fenológico	17,58 *	7,36 *	0,00 ns
Densidade	221,37 *	457,76 *	626,55 *
Milho vs estágio fenológico	8,92 *	1,13 ns	0,73 ns
Milho vs densidade populacional	4,18 *	11,58 *	22,76 *
Estádio fenológico vs densidade populacional	15,08 *	3,49 ns	2,55 ns
Milho vs estágio fenológico vs densidade populacional	4,79 *	3,08 ns	8,27 ns
	Safrinha		
	dias após infestação		
	5	10	15
	<i>deviance</i> ¹		
Milho	112,42 *	225,70 *	191,25 *
Estádio fenológico	0,82 ns	0,11 ns	0,58 ns
Densidade	90,80 *	161,00 *	107,43 *
Milho vs estágio fenológico	1,05 ns	5,52 *	4,44 *
Milho vs densidade populacional	7,92 *	4,66 *	3,80 *
Estádio fenológico vs densidade populacional	4,00 *	0,58 ns	1,41 ns
Milho vs estágio fenológico vs densidade populacional	1,84 ns	2,57 ns	3,00 *

¹ Análise de *deviance* (Nelder & Wedderburn, 1972), com as médias comparadas através da técnica de contraste (P < 0,05).

A análise da interação milho vs estádios fenológicos vs densidades populacionais demonstrou menor porcentagem de plantas com dano no cartucho do milho MON810, em relação ao milho convencional. O milho MON810 apresentou o valor máximo de plantas com dano de 31 e 34%, respectivamente na safra de verão e safrinha. No milho convencional os valores de porcentagem de plantas com dano variaram entre 44 e 91% na safra de verão e 63 a 97% na safrinha (Tabela 39).

Através da análise de nota média de danos no cartucho das plantas, efetuadas ao longo do tempo para as três datas de avaliação (5, 10 e 15 dias), observou-se interação significativa para a maioria dos fatores (Tabela 40). O desdobramento do fator densidade populacional mostrou que não houve diferenças estatísticas entre os níveis populacionais 5, 10 e 15, nas duas épocas de plantio (Tabela 41). No milho MON810, devido à expressão da proteína Cry1Ab, as lagartas determinaram menor dano às plantas (Figura 10). Estes dados corroboram aos obtidos em laboratório (biologia comparada, item 4.1), nos quais observou-se menor consumo das lagartas em milho MON810, bem como menor sobrevivência, em relação ao milho convencional.

Frente aos dados obtidos, portanto, tem-se que o milho MON810 apresentou efetivo padrão de resistência para o controle de *S. frugiperda* independentemente do estágio fenológico da planta e densidades populacionais da praga, nas duas épocas de plantio (safra de verão e safrinha). A expressão da proteína Cry1Ab ocorreu em concentrações letais, nos estádios fenológicos estudados, promovendo a redução populacional de *S. frugiperda*.

Tabela 36. Contraste para o fator milho (convencional e MON810), em diferentes estádios fenológicos e densidades populacionais de *Spodoptera frugiperda*, para o parâmetro porcentagem de plantas com dano. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fator	Verão			Safrinha		
	dias após a infestação			dias após a infestação		
	5	10	15	5	10	15
Milho	Porcentagem de plantas com dano					
MON810	16,12 ± 1,30 a ¹	20,23 ± 1,40 a	21,75 ± 1,50 a	17,13 ± 1,30 a	24,75 ± 1,50 a	20,25 ± 1,40 a
Milho convencional	46,45 ± 1,80 b	55,38 ± 1,80 b	64,13 ± 1,70 b	49,25 ± 1,80 b	68,13 ± 1,60 b	65,25 ± 1,70 b
Estádio fenológico						
2 – 4	34,32 ± 1,70 a	40,88 ± 1,70 a	42,87 ± 1,70 a	31,87 ± 1,60 a	46,00 ± 1,80 a	41,63 ± 1,70 a
6 – 8	27,87 ± 1,60 b	34,76 ± 1,70 b	43,00 ± 1,80 a	34,50 ± 1,70 a	46,88 ± 1,80 a	43,88 ± 1,80 a
Densidade populacional						
0	1,25 ± 0,05 a	1,50 ± 0,60 a	1,25 ± 0,60 a	1,25 ± 0,60 a	2,00 ± 0,70 a	2,25 ± 0,70 a
5	31,20 ± 2,40 b	46,75 ± 2,50 b	49,25 ± 2,50 b	26,75 ± 2,20 b	60,25 ± 2,40 b	51,00 ± 2,50 b
10	42,00 ± 2,50 c	49,75 ± 2,50 b	56,75 ± 2,50 c	49,00 ± 2,50 c	61,50 ± 2,40 b	58,50 ± 2,50 c
15	49,75 ± 2,50 d	53,25 ± 2,50 b	64,50 ± 2,50 d	55,75 ± 2,50 d	62,00 ± 2,40 b	59,25 ± 2,50 c

¹ Médias seguidas de mesma letra, em cada fator nas colunas, não diferem entre si pela técnica de contraste (P< 0,05).

Tabela 37. Contraste para o fator milho (convencional e geneticamente modificado MON810) vs densidade populacional de *Spodoptera frugiperda*, para o parâmetro porcentagem de plantas com danos. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fator milho	Fator estágio fenológico	Porcentagem de plantas com dano
		Verão 5 dias após a infestação
Milho convencional	2 – 4	53,60 ± 2,60 b
Milho convencional	6 – 8	39,80 ± 2,40 c
MON810	2 – 4	16,30 ± 1,80 a
MON810	6 – 8	16,00 ± 1,80 a
		Safrinha 10 dias após infestação
Milho convencional	2 – 4	70,75 ± 2,30 b
Milho convencional	6 – 8	65,50 ± 2,40 b
MON810	2 – 4	21,25 ± 2,00 a
MON810	6 – 8	28,25 ± 2,30 a
		Safrinha 15 dias após infestação
Milho convencional	2 – 4	67,00 ± 2,40 b
Milho convencional	6 – 8	63,50 ± 2,40 b
MON810	2 – 4	16,25 ± 1,80 a
MON810	6 – 8	24,25 ± 2,10 a

¹ Médias seguidas de mesma letra, em cada fator, não diferem entre si pela técnica de contraste ($P < 0,05$).

Tabela 38. Contraste para o fator milho (convencional e MON810) vs densidade populacional de *Spodoptera frugiperda*, para porcentagem de plantas com danos. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fator milho	Fator densidade populacional	Porcentagem de plantas com dano	
		Verão	Safrinha
		5 dias após a infestação	
Milho convencional	0	1,00 ± 0,70 a	1,50 ± 0,90 d
Milho convencional	5	49,70 ± 3,80 d	34,50 ± 3,40 c
Milho convencional	10	62,50 ± 3,40 e	75,00 ± 3,10 e
Milho convencional	15	73,00 ± 3,10 f	86,00 ± 2,50 f
MON810	0	1,50 ± 0,90 a	1,00 ± 0,70 a
MON810	5	15,00 ± 2,50 b	19,00 ± 2,80 b
MON810	10	21,50 ± 2,90 c	23,00 ± 3,00 b
MON810	15	26,50 ± 3,10 c	25,50 ± 3,10 bc
10 dias após a infestação			
Milho convencional	0	1,00 ± 0,70 c	2,00 ± 1,00 a
Milho convencional	5	68,50 ± 3,30 d	86,50 ± 2,40 c
Milho convencional	10	74,50 ± 3,10 d	90,50 ± 2,10 c
Milho convencional	15	77,50 ± 3,30 d	93,50 ± 1,70 c
MON810	0	2,00 ± 1,00 a	2,00 ± 1,00 a
MON810	5	25,00 ± 3,10 b	34,00 ± 3,30 b
MON810	10	25,00 ± 3,10 b	32,50 ± 3,30 b
MON810	15	29,00 ± 3,20 b	30,50 ± 3,33 b
15 dias após a infestação			
Milho convencional	0	1,00 ± 0,90 a	35,00 ± 1,30 a
Milho convencional	5	73,50 ± 3,10 d	75,50 ± 3,00 c
Milho convencional	10	88,00 ± 2,30 e	93,00 ± 1,80 d
Milho convencional	15	94,00 ± 1,70 e	89,00 ± 2,20 d
MON810	0	1,50 ± 0,10 a	1,00 ± 0,70 a
MON810	5	25,00 ± 3,10 b	26,50 ± 3,10 b
MON810	10	25,50 ± 3,10 b	24,00 ± 3,00 b
MON810	15	35,00 ± 3,40 c	29,50 ± 3,20 b

¹ Médias seguidas de mesma letra, em cada data de avaliação nas colunas, não diferem entre si pela técnica de contraste (P < 0,05).

Tabela 39. Contraste para o fator milho (convencional e geneticamente modificado MON810) vs densidade populacional vs estágio fenológico, para o parâmetro porcentagem de plantas com danos. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fator milho	Fator estágio fenológico	Fator densidade populacional	Porcentagem de plantas com dano
			Verão
			5 dias após a infestação
Milho convencional	2 – 4	0	1,00 ± 1,0 a ¹
Milho convencional	2 – 4	5	44,00 ± 5,70 e
Milho convencional	2 – 4	10	76,00 ± 4,30 f
Milho convencional	2 – 4	15	91,00 ± 2,90 g
Milho convencional	6 – 8	0	1,00 ± 1,00 a
Milho convencional	6 – 8	5	54,00 ± 0,50 e
Milho convencional	6 – 8	10	49,00 ± 0,50 e
Milho convencional	6 – 8	15	55,00 ± 0,50 e
MON810	2 – 4	0	2,00 ± 1,40 a
MON810	2 – 4	5	13,00 ± 3,40 b
MON810	2 – 4	10	19,00 ± 3,90 bc
MON810	2 – 4	15	31,00 ± 4,60 d
MON810	6 – 8	0	1,00 ± 1,00 a
MON810	6 – 8	5	17,00 ± 3,80 bc
MON810	6 – 8	10	24,00 ± 4,30 cd
MON810	6 – 8	15	22,00 ± 4,10 cd
			Safrinha
			15 dias após a infestação
Milho convencional	2 – 4	0	5,00 ± 2,20 a
Milho convencional	2 – 4	5	88,00 ± 3,20 c
Milho convencional	2 – 4	10	89,00 ± 3,10 c
Milho convencional	2 – 4	15	86,00 ± 3,50 c
Milho convencional	6 – 8	0	2,00 ± 1,40 a
Milho convencional	6 – 8	5	63,00 ± 4,80 d
Milho convencional	6 – 8	10	97,00 ± 1,70 c
Milho convencional	6 – 8	15	92,00 ± 2,70 c
MON810	2 – 4	0	1,00 ± 1,00 a
MON810	2 – 4	5	20,00 ± 4,00 b
MON810	2 – 4	10	19,00 ± 3,90 b
MON810	2 – 4	15	25,00 ± 4,30 b
MON810	6 – 8	0	1,00 ± 1,00 a
MON810	6 – 8	5	33,00 ± 4,70 b
MON810	6 – 8	10	29,00 ± 4,50 b
MON810	6 – 8	15	34,00 ± 4,70 b

¹ Médias seguidas de mesma letra, em cada fator, não diferem entre si pela técnica de contraste (P < 0,05).

Tabela 40. Análise de perfil dos fatores milho, estágio fenológico e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda*, para nota média de danos. Santa Cruz das Palmeiras, SP. Safra 1999/2000.

Fatores	Verão	Safrinha
	T^2 de Hotelling's ¹	
Milho	174,39 *	103,23 *
Estádio fenológico	3,48 *	6,24 *
Densidade	83,93 *	46,73 *
Milho vs estágio fenológico	4,55 *	2,01 ns
Milho vs densidade populacional	20,60 *	12,93 *
Estádio fenológico vs densidade populacional	4,80 *	3,12 *
Milho vs estágio fenológico vs densidade populacional	4,64 *	1,36 ns

¹ Análise multivariada (Hotelling, 1931).

Tabela 41. Contraste para o fator densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* para a nota média de dano. Santa Cruz das Palmeiras. Safrinha 2000.

Fator densidade populacional	Verão	Safrinha
	T^2 de Hotelling's ¹	
0 vs 5	11,68 *	4,17 *
0 vs 10	5,63 *	9,70 *
0 vs 15	22,59 *	11,10 *
5 vs 10	2,22 ns	1,16 ns
5 vs 15	3,53 ns	1,66 ns
10 vs 15	11,02 ns	0,06 ns

¹ Análise multivariada (Hotelling, 1931).

Figura 10 - Avaliação de nota média de dano no cartucho de milho convencional e geneticamente modificado (MON810) por lagartas de *Spodoptera frugiperda* em diferentes densidades populacionais da praga e estágio fenológico da cultura. Santa Cruz das Palmeiras, SP, safra 1999/2000.

4.2.2 Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) na infestação natural de *S. frugiperda*

A análise estatística, efetuada ao longo do tempo para todas as avaliações, do número de lagartas (pequenas e grandes), porcentagem de plantas com danos no cartucho e nota média de dano no cartucho em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) foi significativa, nos três experimentos realizados (Tabelas 42, 43 e 44).

Tabela 42. Avaliação do número de lagartas pequenas (até 1,5 cm) e grandes (> 1,5 cm) *Spodoptera frugiperda* (em 10 plantas) em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em Barretos, SP e Rolândia, PR. Safras 1999/2000 e 2000/2001.

Tratamentos	Barretos		Rolândia
	1999/2000 ¹	2000/2001 ²	2000/2001 ³
Lagartas pequenas			
Milho convencional	13,28 ± 0,61 a ⁴	22,04 ± 0,68 a	7,88 ± 0,43 a
MON810	5,92 ± 0,41 b	13,08 ± 0,53 b	1,97 ± 0,22 b
Lagartas grandes			
Milho convencional	3,40 ± 0,29 a	8,27 ± 0,29 a	1,99 ± 0,12 a
MON810	1,25 ± 0,18 b	3,64 ± 0,19 b	0,17 ± 0,03 b

¹ Lagartas pequenas: F= 14,28; P= 0,0003; Lagartas grandes: F= 9,20; P= 0,0031

² Lagartas pequenas: F= 11,51; P= 0,0009; Lagartas grandes: F= 13,10; P= 0,0003

³ Lagartas pequenas: F= 164,22; P< 0,0001; Lagartas grandes: F= 33,5; P< 0,0001

⁴ Médias seguidas de mesma nas colunas não diferem entre si pela técnica de contraste (P< 0,05).

Tabela 43. Porcentagem de plantas com danos de *Spodoptera frugiperda* no cartucho de milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em Barretos, SP e Rolândia, PR. Safras 1999/2000 e 2000/2001.

Tratamentos	Barretos		Rolândia
	1999/2000 ¹	2000/2001 ²	2000/2001 ³
% de plantas com dano			
Milho convencional	51,56 ± 1,45 a ⁴	88,89 ± 1,19 a	77,61 ± 1,55 a
MON810	16,27 ± 1,08 b	46,12 ± 1,89 b	38,41 ± 1,81 b

¹ F= 15,13; P= 0,0001 ² F= 14,03; P= 0,0002 ³ F= 14,13; P= 0,0002

⁴ Médias seguidas de mesma nas colunas não diferem entre si pela técnica de contraste (P< 0,05).

Tabela 44. Avaliação de dano no cartucho, através de escala de notas, em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em Barretos, SP e Rolândia, PR. Safras 1999/2000 e 2000/2001.

Tratamentos	Barretos		Rolândia
	1999/2000 ¹	2000/2001 ²	2000/2001 ³
dano médio nas folhas			
Milho convencional	3,30 ± 0,05 b ⁴	5,33 ± 0,06 b	5,18 ± 0,11 b
MON810	1,37 ± 0,04 a	3,19 ± 0,11 a	1,67 ± 0,11 a

¹ F= 15,52; P< 0,0001 ² F= 14,45; P= 0,0001 ³ F= 15,35; P< 0,0001

⁴ Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pela técnica de contraste (P< 0,05).

Os resultados, obtidos para o número de lagartas, demonstraram que houve diferença estatística entre os tratamentos (milho convencional e geneticamente modificado MON810), ocorrendo menor sobrevivência de lagartas no milho MON810 (Tabela 42). Ao longo das avaliações o número médio de lagartas pequenas por 10 plantas, em Barretos (safras 1999/2000 e 2000/2001) e Rolândia (safra 2000/2001) foi de 13,3; 22,0 e 7,9 no milho convencional e 5,9; 13,1 e 2,0 no milho MON810. Quanto ao número médio de lagartas grandes por 10 plantas observaram-se 3,4; 8,3 e 2,0 lagartas no milho convencional, enquanto que no milho MON810 ocorreram 1,3; 3,7 e 0,2 lagartas, respectivamente para os três experimentos (Tabela 42). O número de lagartas sobreviventes (pequenas e grandes) foi significativamente inferior no milho MON810, em relação ao milho convencional, mostrando a ação da proteína Cry1Ab sobre tais lagartas (Tabela 42 e Figura 11). Estes resultados corroboram com as observações de Williams et al. (1997), Lynch et al. (1999), Buntin et al. (2000) e Martinelli (2001), pois estes autores verificaram que algumas espécies de lepidópteros, como *S. frugiperda*, em milho geneticamente modificado

tiveram a população reduzida devido à ação da referida proteína. Conforme relatado por Armstrong et al. (1995), Williams et al. (1997) e Agbios (2002) a proteína Cry1Ab é expressa continuamente nas folhas do milho MON810, durante todo o desenvolvimento da cultura, o que determina a resistência da planta a insetos como *S. frugiperda*.

Em ambos os tratamentos (milho convencional e MON810) ocorreram plantas com danos no cartucho (Tabela 43). Entretanto, a porcentagem de plantas com dano, ao longo do ciclo vegetativo, foi significativamente maior no milho convencional, do que no milho MON810, em todos os experimentos (Tabela 43 e Figura 12). O milho convencional apresentou 51,6; 88,9 e 77,6% de plantas com dano, sendo que no milho MON810 os valores foram de 16,3; 46,8 e 38,4%, respectivamente para os ensaios realizados em Barretos (safras 1999/2000 e 2000/2001) e Rolândia (safra 2000/2001). Conforme dados apresentados anteriormente, houve infestação de lagartas durante todo o ciclo da cultura, nos dois tratamentos. Assim, é esperado algum tipo de dano nas folhas do milho MON810, uma vez que para ser controlado o inseto deve ingerir a proteína Cry1Ab, por ocasião da herbivoria (Armstrong et al., 1985; Koziel et al., 1992; Williams et al., 1997; Buntin et al., 2001).

Figura 11 - Avaliação do número médio de lagartas (pequenas e grandes em 10 plantas) de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em Barretos, SP na safra 2000 (A) e 2001 (B) e em Rolândia, PR na safra 2001 (C). P = lagartas pequenas; G = lagartas grandes.

Figura 12 - Avaliação de porcentagem de plantas com dano de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em Barretos, SP na safra 2000 (A) e 2001 (B) e em Rolândia, PR na safra 2001 (C).

Buntin et al. (2001) estudando o padrão de resistência do milho MON810 para *S. frugiperda*, em estudos de campo em diferentes localidades, observaram menor porcentagem de plantas com danos no cartucho deste milho, comparativamente ao milho convencional. Os autores relataram que no milho MON810 a porcentagem de plantas com dano no cartucho chegaram no máximo a 35%, enquanto no milho convencional ocorreram até 96,1% de plantas danificadas. Os maiores valores de dano no cartucho obtidos na presente pesquisa foram próximos aos registrados por aqueles autores (46,1% no milho MON810 e 88,9% no milho convencional, respectivamente).

A avaliação do dano no cartucho através da escala de notas (0 a 9) possibilitou avaliar a intensidade do dano de *S. frugiperda* nos tratamentos avaliados. O milho convencional apresentou maior intensidade de dano que o milho MON810 (Tabela 44, Figura 13), pois apresentou nota média de dano por planta de 3,3; 5,3 e 5,2, enquanto no milho MON810 os valores foram de 1,4; 3,2 e 1,7, respectivamente para os ensaios realizados em Barretos (safras 1999/2000 e 2000/2001) e Rolândia (safra 2000/2001). Os baixos valores de nota de dano obtidos neste trabalho no milho MON810 concordam com os registros efetuados por Williams et al. (1997) e Buntin et al. (2001).

Figura 13 - Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda*, através de escala de notas, em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em Barretos, SP na safra 2000 (A) e 2001 (B) e em Rolândia, PR na safra 2001 (C).

Assim, apesar do milho MON810 apresentar, na média dos três experimentos, 33,6% de plantas com danos, a nota média de dano variou entre 1,4 e 3,2. Conforme escala de notas proposta por Davis et al. (1992) a nota 3 refere-se a plantas com lesões (“raspagem de folha”) circulares e alongadas. Segundo Davis et al. (1992) as lagartas de *S. frugiperda*, nos primeiros instares, se limitam a raspar as folhas das plantas. As proporções de danos observadas no milho MON810, portanto, referem-se ao comportamento inicial de alimentação das lagartas nas folhas. Estes danos, todavia, ao contrário do observado no milho convencional não progrediram devido à ação da proteína Cry1Ab nas lagartas (Armstrong et al., 1985, Koziel et al., 1992 e Martinelli, 2001). No milho convencional, a porcentagem média de plantas com dano no cartucho, nos três experimentos, foi de 72,7%, apresentando nota média de dano que variou entre 3,3 e 5,3, o que representa plantas com lesões e furos nas folhas do cartucho.

Com base nos dados, constatou-se que o milho MON810 apresentou alto padrão de resistência a *S. frugiperda*, sendo a proteína Cry1Ab efetiva na proteção da planta na infestação e danos promovidos por este lepidóptero. Registrou-se também que as plantas de milho MON810 e milho convencional apresentaram folhas do cartucho com sinais de dano. Todavia, a intensidade de dano no cartucho do milho MON810 foi menor, denotando o comportamento inicial de alimentação de *S. frugiperda*, sem prejuízos ao desenvolvimento das plantas.

4.3 Interação tritrófica: milho geneticamente modificado (MON810), *S. frugiperda* e *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner, 1983)

4.3.1 Interação do milho geneticamente modificado (MON810), *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* em sucessivas gerações do parasitóide

A porcentagem de parasitismo de *T. atopovirilia* foi estatisticamente semelhante, entre os tratamentos, em todas as gerações com exceção de F₃ (Tabela 45). No entanto, em F₃ observou-se que a maior porcentagem de parasitismo ocorreu no milho geneticamente modificado MON810, a qual diferiu dos dois demais tratamentos (milho convencional e milho MON810/milho convencional).

Ao longo das gerações (F₁ a F₅) houve diferenças estatísticas quanto ao parasitismo de *T. atopovirilia* em todos os tratamentos, inclusive no milho convencional, indicando que outros fatores contribuíram para estas diferenças, e não os substratos alimentares utilizados pelas lagartas de *S. frugiperda*. O aumento do parasitismo ao longo das gerações reforça o fato da não interferência do milho MON810 na qualidade dos ovos e, por conseguinte, na capacidade de parasitismo de *T. atopovirilia* (Tabela 45).

Com relação à porcentagem de emergência observou-se que não houve diferença entre tratamentos, nas distintas gerações, com uma única exceção para F₃ (Tabela 46). Nesta geração, os tratamentos milho convencional e geneticamente modificado (MON810) diferiram em relação ao tratamento milho MON810/milho convencional. Uma vez que a porcentagem de emergência de *T. atopovirilia* foi estatisticamente semelhante ao milho convencional e MON810, pode-se inferir que a diferença ocorrida deve estar relacionada a fatores outros,

que não os tratamentos em si, conforme observado para a capacidade de parasitismo.

Tabela 45. Porcentagem de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), por cinco gerações do parasitóide em laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Porcentagem de parasitismo				
	Gerações				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
Milho convencional	73,69 $\pm$ 2,60 a A ¹	82,00 $\pm$ 2,20 a B	82,06 $\pm$ 2,30 b B	80,94 $\pm$ 2,30 a B	85,94 $\pm$ 2,10 a B
MON810	73,56 $\pm$ 2,60 a A	80,75 $\pm$ 2,30 a B	88,75 $\pm$ 1,90 a C	86,56 $\pm$ 2,00 a BC	89,06 $\pm$ 1,90 a C
MON810/milho convencional	-	81,00 $\pm$ 2,30 a A	80,69 $\pm$ 2,30 b A	86,44 $\pm$ 2,00 a AB	89,31 $\pm$ 1,80 a B

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de contraste ($P < 0,05$).

No milho convencional não houve diferença estatística para a porcentagem de emergência ao longo das gerações. Diferenças estatísticas foram observadas, no entanto, nos tratamentos compostos por milho MON810 e milho MON810/convencional no decorrer das cinco gerações estudadas. Em ambos os casos, a porcentagem de emergência foi maior nas gerações subseqüentes. Desta forma, as diferenças ocorridas, ao longo das gerações e dentro nos distintos tratamentos, não refletem interação negativa com a qualidade de ovos em função do substrato alimentar.

Tabela 46. Porcentagem de emergência de *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), por cinco gerações do parasitóide em laboratório. Temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Porcentagem de emergência				
	Gerações				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
Milho convencional	95,25 $\pm$ 1,40 a A ¹	96,49 $\pm$ 1,20 a A	96,19 $\pm$ 1,20 a A	94,98 $\pm$ 1,40 a A	94,69 $\pm$ 1,40 a A
MON810	94,65 $\pm$ 1,40 a A	98,92 $\pm$ 0,70 a B	96,62 $\pm$ 1,10 a AB	95,24 $\pm$ 1,30 a A	94,32 $\pm$ 1,40 a A
MON810/milho convencional	-	91,13 $\pm$ 1,70 b A	97,29 $\pm$ 1,00 a B	96,31 $\pm$ 1,21 a B	97,06 $\pm$ 1,00 a B

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de contraste ($P < 0,05$).

O número de parasitóides emergidos nos distintos tratamentos foi estatisticamente semelhante, sendo diferente apenas em F₃ nos tratamentos milho convencional e milho MON810/milho convencional (Tabela 47). Ao longo das gerações também ocorreram diferenças estatísticas, para os tratamentos milho convencional e MON810. Ressalta-se, porém, que no decorrer das gerações o número de parasitóides emergidos aumentou, neste tratamento, demonstrando, portanto que o milho MON810 não afetou negativamente este parâmetro.

A razão sexual dos parasitóides foi semelhante entre os tratamentos nas distintas gerações. No decorrer das gerações também não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, com uma única exceção para o milho MON810 em F₂ (Tabela 48). Assim, conclui-se que o milho MON810 não afetou a razão

sexual dos parasitóides emergidos em ovos de *S. frugiperda* criada neste substrato.

Tabela 47. Número de *Trichogramma atopovirilia* emergido de ovos de *Spodoptera frugiperda*, alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), por cinco gerações do parasitóide em laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Número de parasitóides				
	Gerações				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
Milho convencional	32,02 $\pm$ 0,17 a A ¹	41,07 $\pm$ 0,18 a B	37,26 $\pm$ 0,17 b B	38,62 $\pm$ 0,17 a B	40,21 $\pm$ 0,18 a B
MON810	34,25 $\pm$ 0,75 a A	41,33 $\pm$ 1,80 a ABC	43,79 $\pm$ 0,18 a C	38,89 $\pm$ 0,17 a AB	43,31 $\pm$ 0,18 a BC
MON810/milho convencional	-	44,84 $\pm$ 0,19 a A	41,41 $\pm$ 0,18 ab A	40,04 $\pm$ 0,17 a A	43,87 $\pm$ 0,18 a A

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de contraste ($P < 0,05$).

A longevidade de *T. atopovirilia* foi estatisticamente semelhante nos três tratamentos, nas diferentes gerações estudadas (Tabela 49). A longevidade de *T. atopovirilia* foi menor a partir de F₁, em todos os tratamentos, ocorrendo diferenças estatísticas entre gerações. Entretanto, no tratamento milho MON810/milho convencional, a longevidade foi relativamente maior em F₅ comparativamente a F₁. Visto que não houve diferença estatística entre os tratamentos nas gerações em relação ao milho convencional, e que neste, a variação de longevidade também ocorreu, tem-se que as variações não ocorreram em função do substrato alimentar à base de milho MON810.

Os dados obtidos demonstram que *T. atopovirilia* criado, continuamente, por cinco gerações em ovos de *S. frugiperda* alimentada durante a fase larval em milho MON810 e milho MON810/milho convencional, apresentaram capacidade de parasitismo e desenvolvimento biológico semelhantes àqueles parasitóides criados em ovos do inseto mantido em milho convencional. Portanto, observou-se que o milho MON810 não interferiu na capacidade de parasitismo e desenvolvimento biológico do parasitóide em sucessivas gerações de *T. atopovirilia*.

Tabela 48. Razão sexual de *Trichogramma atopovirilia* criado em ovos de *Spodoptera frugiperda*, alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), por cinco gerações do parasitóide em laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Razão sexual ¹				
	Gerações				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
Milho convencional	$0,72 \pm 0,03$ a A ¹	$0,69 \pm 0,03$ ab A	$0,69 \pm 0,03$ a A	$0,74 \pm 0,03$ a A	$0,74 \pm 0,03$ a A
MON810	$0,75 \pm 0,03$ a A	$0,63 \pm 0,03$ a B	$0,70 \pm 0,03$ a A	$0,74 \pm 0,03$ a A	$0,70 \pm 0,03$ a A
MON810/milho convencional	-	$0,70 \pm 0,03$ b A	$0,70 \pm 0,03$ a A	$0,71 \pm 0,03$ a A	$0,70 \pm 0,03$ a A

¹ razão sexual = fêmeas/fêmeas + machos.

² Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de contraste ($P < 0,05$).

Tabela 49. Longevidade de *Trichogramma atopovirilia* (dias) emergidos de ovos de *Spodoptera frugiperda*, alimentada em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), por cinco gerações do parasitóide em laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Longevidade (dias)				
	Gerações				
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
Milho convencional	$6,70 \pm 0,36$ a A ¹	$4,82 \pm 0,24$ a B	$3,26 \pm 0,18$ a C	$3,54 \pm 0,19$ a C	$4,96 \pm 0,23$ a B
MON810	$6,68 \pm 0,28$ a A	$5,10 \pm 0,23$ a B	$3,20 \pm 0,22$ a C	$3,42 \pm 0,18$ a C	$4,96 \pm 0,20$ a B
MON810/milho convencional	-	$4,74 \pm 0,18$ a A	$3,22 \pm 0,22$ a B	$3,46 \pm 0,17$ a B	$5,24 \pm 0,24$ a C

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste não-paramétrico de logrank ($P < 0,05$).

4.3.2 Interação do milho geneticamente modificado (MON810), *S. frugiperda* e *T. atopovirilia* após sucessivas gerações da praga

A porcentagem de parasitismo e emergência, número de parasitóides emergidos, razão sexual e longevidade de *T. atopovirilia* não diferiram entre os tratamentos, após cinco de gerações de *S. frugiperda* mantida em milho convencional, milho MON810 e ambos alternadamente ao longo das gerações (Tabela 50).

Tabela 50. Porcentagem de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* em ovos de *Spodoptera frugiperda* alimentada por cinco gerações em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em laboratório. Temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h.

Tratamento	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Número de parasitóides emergidos	Razão sexual ³	Longevidade (dias)
Milho convencional	$75,06 \pm 1,08 \text{ a}^1$	$87,34 \pm 0,96 \text{ a}^1$	$29,31 \pm 0,17 \text{ a}^1$	$0,71 \pm 0,02 \text{ a}^1$	$8,48 \pm 0,33 \text{ a}^2$
MON810	$75,06 \pm 1,08 \text{ a}$	$91,92 \pm 0,79 \text{ a}$	$30,48 \pm 0,17 \text{ a}$	$0,76 \pm 0,02 \text{ a}$	$8,78 \pm 0,32 \text{ a}$
MON810/milho convencional	$74,69 \pm 1,09 \text{ a}$	$92,30 \pm 0,77 \text{ a}$	$31,15 \pm 0,17 \text{ a}$	$0,75 \pm 0,02 \text{ a}$	$8,68 \pm 0,25 \text{ a}$

^{1,2} Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de contraste ($P < 0,05$) e pelo teste não-paramétrico de logrank ($P < 0,05$), respectivamente.

³ razão sexual = fêmeas/fêmeas + machos.

Os resultados demonstram que os ovos de *S. frugiperda*, alimentada durante a fase larval em milho MON810 e milho MON810/milho convencional, apresentaram qualidade nutricional adequada, uma vez que para todos os parâmetros estudados não registraram-se diferenças estatísticas em relação ao milho convencional.

4.4 Distribuição de posturas e parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810) em diferentes estádios fenológicos do milho

4.4.1 Distribuição espacial e temporal de posturas de *S. frugiperda*

As posturas de *S. frugiperda* foram encontradas em todos os estádios fenológicos do milho convencional e geneticamente modificado (MON810). No milho convencional todas as posturas foram encontradas na superfície foliar. No milho MON810 a maioria das posturas foi encontrada na superfície foliar (99%), sendo que apenas uma postura foi localizada no caule.

As posturas ocorreram praticamente em todos os estádios fenológicos do milho convencional e MON810 (4 – 6, 8 – 10 e 12 – 14 folhas) e em ambas as superfícies da folha (abaxial e adaxial) (Tabela 51). No milho convencional, ocorreram 33, 50 e 17% das posturas nos estádios fenológicos de 4 a 6, 8 a 10 e 12 a 14 folhas. No milho MON810, as porcentagens foram 40, 46 e 14%, respectivamente nos distintos estádios fenológicos citados. Devido à baixa variabilidade dos dados (número de posturas por região da planta e superfície da folha) não foi possível efetuar a análise estatística dos mesmos.

A distribuição das posturas no estágio fenológico de 4 a 6 folhas concentrou-se na região inferior e superfície abaxial das folhas, para o milho convencional e MON810. Para o estágio de 8 a 10 folhas, as posturas foram encontradas em maior quantidade na região mediana das plantas e região abaxial da folha. No estágio de 12 a 14 folhas, as posturas concentraram-se na região superior das plantas e na superfície adaxial das folhas.

Os dados de distribuição de posturas, do presente estudo, são semelhantes aos observados por Beserra (2000). O autor avaliando a distribuição de posturas de *S. frugiperda* em milho convencional observou que as posturas deste lepidóptero ocorreram nos distintos estádios fenológicos da cultura. No estágio fenológico de 8 a 10 folhas, no entanto, o autor observou maior número de posturas na região adaxial da folhas, e no estágio de 12 a 14 folhas, as posturas concentraram-se na região mediana das plantas. Apesar destas pequenas variações, os resultados obtidos são semelhantes àqueles encontrados por Beserra (2000).

Ao longo do desenvolvimento das plantas observou-se que as posturas de *S. frugiperda* foram efetuadas na região mediana da plantas (43 e 47%, no milho convencional e MON810, respectivamente). As posturas foram efetuadas, na sua maioria, na região abaxial da folhas (60 e 53% no milho convencional e MON810, respectivamente). Esses resultados corroboram com os obtidos por Sifontes et al. (1988), nos quais *S. frugiperda*, independente da idade da planta de arroz (*Oryza sativa*), teve preferência por ovipositar na região mediana da planta e superfície abaxial da folhas e Ali et al. (1989) que relataram posturas de *S. frugiperda* nas regiões inferiores e medianas do algodoeiro (*Gossypium hirsutum*) tendo a superfície abaxial da folhas, como local de preferido para oviposição. Também Menezes et al. (1991) observaram maior quantidade de posturas de *S. frugiperda* na região abaxial de folhas da cultura do arroz.

Tabela 51. Distribuição de posturas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado, em diferentes estádios fenológicos, em milho safrinha. Barretos, SP, safra 2000.

Milho	Estádio fenológico (número de folhas)	n	Postura/região da planta			Posturas/superfície da folha	
			inferior	média	superior	abaxial	adaxial
Milho convencional	4 – 6	10	6	4	-	10	-
	8 – 10	15	-	9	6	8	7
	12 – 14	4	-	-	5	-	5
MON810	4 – 6	26	21	6	-	27	17
	8 – 10	30	-	26	5	9	5
	12 – 14	10	-	-	10	-	10

Numericamente, na presente pesquisa, houve maior quantidade de posturas no milho MON810, do que no milho convencional (68 e 30 posturas, respectivamente). Muito provavelmente isto tenha ocorrido devido à maior proximidade da parcela do milho MON810 com outros cultivos de milho (com idade mais avançada) e pastagens, presentes próximo à área experimental. Segundo Gutiérrez-Martínez et al. (1989) as infestações de *S. frugiperda* em milho ocorrem em função da movimentação de adultos de cultivos anteriores ou vizinhos e de outras plantas hospedeiras, para efetuarem oviposições na cultura.

Não houve interação significativa para os parâmetros milho (convencional e MON810) e número médio de ovos, nos distintos estádios fenológicos da planta ($F=0,84$; $P= 0,4348$). O número médio de ovos por postura foi de 147,2 e 127,5 no milho convencional e MON810, respectivamente, não ocorrendo diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 52). Houve, numericamente, maior média de ovos por postura no estágio fenológico de 12 a 14 folhas, sem diferir estatisticamente do estágio fenológico de 8 a 10 folhas. Conforme relatado anteriormente, o maior número de posturas ocorreu no estágio de 8 a 10 folhas.

Também não houve interação significativa para os parâmetros milho (convencional e MON810) e número de camadas por postura, nos distintos estádios fenológicos da planta ($F= 1,04$; $P= 0,3590$). Não ocorreu diferença estatística para ao número de camadas das posturas de *S. frugiperda* entre milho convencional e MON810, e entre os distintos estádios fenológicos (média de 2,9 camadas). Estes dados corroboram com os obtidos por Meneses et al. (1991) e Beserra (2000) que observaram que as posturas de *S. frugiperda* em arroz e milho (convencional), tinham, em média, mais do que uma camada, sendo mais frequentes as de duas e três camadas de ovos. Constatou-se que o número

médio de ovos e camadas das posturas não diferiu estatisticamente entre o milho convencional e MON810. Estes dados concordam com aqueles obtidos por Orr & Landis (1997), Helmich et al. (1999) e Pilcher & Rice (2001) que estudando a oviposição de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) em milho convencional e geneticamente modificado, observaram que não houve diferenças quanto a preferência de postura do lepidópteros entre as plantas estudadas. Liu et al. (2002) observaram dados semelhantes para *Pectinophora gossypiella* (Saund., 1844) em algodoeiro convencional e geneticamente modificado.

Tabela 52. Número médio de ovos e camadas das posturas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes estádios fenológicos, em milho safrinha. Barretos, SP, safra 2000.

Fator	Número médio de ovos	Número de camadas/postura
Milho		
Milho convencional	147,18 ± 0,85 a ¹	2,73 ± 0,06 a
MON810	127,48 ± 0,49 a	3,08 ± 0,04 a
Estádio fenológico		
4 – 6	90,13 ± 0,72 a	2,70 ± 0,07 a
8 – 10	126,85 ± 0,56 ab	3,17 ± 0,04 a
12 – 14	195,03 ± 0,87 b	2,85 ± 0,08 a

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Quanto à oviposição de *S. frugiperda*, os dados são semelhantes aos de Orr & Landis (1997), que referiram que *O. nubilalis* apresentou igual padrão de postura no milho convencional e MON810. Assim, os dados obtidos demonstraram a não interferência do milho MON810 no comportamento de oviposição de *S. frugiperda*.

4.4.2 Parasitismo natural por *Trichogramma* spp.

Não houve interação significativa dos fatores milho (convencional e geneticamente modificado MON810) para o número médio de ovos parasitados ($F= 0,28$; $P= 0,7596$), bem como para a porcentagem de ovos parasitados ($F= 0,31$; $P= 0,7359$).

O número de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo no milho convencional foi semelhante ao do milho MON810 (2,3 e 6,1 ovos parasitados e 8,2 e 10,8% de parasitismo, respectivamente). Constatou-se maior parasitismo nos estádios fenológicos de 4 a 6 e 10 a 12 folhas, sendo de 19,7 e 6,3%, respectivamente para milho convencional e MON810 (Tabela 53). Não houve diferença estatística para o parasitismo de ovos entre 4 a 6 e 12 a 14 folhas. Obteve-se diferença estatística apenas no parasitismo ocorrido entre os estádios fenológicos de 4 a 6 e de 8 a 10 folhas, sendo que neste último estágio registrou-se o menor parasitismo (2,61%).

A similaridade de parasitismo de ovos de *S. frugiperda* no milho convencional e MON810, no presente estudo, corroborou com as descrições de Martinelli (2001) e Lozzia & Manachini (2002), que registraram índices de parasitismo semelhantes de ovos de *Helicoverpa zea* (Bod., 1850) e *O. nubilalis*, em

milho convencional e geneticamente modificado, por *Trichogramma* spp. e *Trichogramma brassicae* (Bezdenko, 1968), respectivamente. Os resultados obtidos no presente estudo mostraram, portanto, que não ocorreu interferência do milho MON810 no parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *Trichogramma* spp.

Tabela 53. Parasitismo de *Spodoptera frugiperda* por *Trichogramma* spp. em milho convencional e geneticamente modificado (MON810), em diferentes estádios fenológicos, em milho safrinha. Barretos, SP, safra 2000.

Fator	Número médio de ovos parasitados	Porcentagem de ovos parasitados
Milho		
Milho convencional	$2,26 \pm 0,14$ a ¹	$8,24 \pm 0,14$ a
MON810	$6,07 \pm 0,11$ a	$10,82 \pm 0,11$ a
Estádio fenológico		
4 – 6	$5,91 \pm 0,15$ a	$19,71 \pm 0,16$ a
8 – 10	$1,34 \pm 0,10$ b	$2,61 \pm 0,10$ b
12 – 14	$5,25 \pm 0,25$ ab	$6,28 \pm 0,23$ ab

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

O parasitismo natural observado, no entanto, foi baixo, sendo em média de 8,2 e 10,8%, no milho convencional e MON810, respectivamente. Apesar da disponibilidade de ovos em todos os estádios fenológicos, e apesar da maior concentração de ovos ter ocorrido nos estádios de 4 a 6 e de 12 a 14 folhas, não houve um aumento do parasitismo por *Trichogramma*. Dados similares foram encontrados por Beserra (2000) em milho para o parasitismo do referido parasitóide em ovos de *S. frugiperda*. Segundo o autor, baixo parasitismo natural

de *Trichogramma* spp. em ovos de *S. frugiperda* ocorre devido às características físicas da postura deste lepidóptero, que possui mais de uma camada de ovos, cobertas por escamas, dificultando o parasitismo dos ovos das camadas inferiores.

Encontraram-se duas espécies de *Trichogramma* parasitando ovos de *S. frugiperda* no milho convencional e geneticamente modificado (MON810) (Figura 14). A espécie *T. pretiosum* foi a predominante, representando 84,9 e 96,9%, no milho convencional e MON810, respectivamente. Outra espécie coletada, *T. atopovirilia* ocorreu em porcentagens de 11,3 e 2,1%, no milho convencional e MON810, respectivamente. Alguns exemplares de *Trichogramma* não foram identificados em nível de espécie, pois emergiram apenas fêmeas e a identificação se baseia em caracteres morfológicos do macho. A predominância de *T. pretiosum* em relação à *T. atopovirilia* já fora relatada por Beserra (2000) e Cañete & Foerster (2000) em ovos de *S. frugiperda* e *H. zea*, respectivamente.

Figura 14 - Espécies de *Trichogramma* coletadas em posturas de *Spodoptera frugiperda* em milho convencional (A) e milho geneticamente modificado (MON810) (B), em milho safrinha. Barretos, SP, safra 2001.

5 CONCLUSÕES

- O milho geneticamente modificado, MON810, alonga o ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) levando a um ínstar adicional como reflexo da sua inadequação nutricional;
- A proteína Cry1Ab, presente no milho geneticamente modificado, causa maior mortalidade larval e pré-pupal e diminui o peso de pupas de *S. frugiperda*, em relação ao milho convencional;
- A taxa líquida de reprodução (R_0) e a razão finita de aumento (λ) são menores no milho geneticamente modificado, comparativamente ao milho convencional;
- O comportamento canibal de *S. frugiperda* é acentuado no milho geneticamente modificado;
- O consumo de área foliar por *S. frugiperda* é menor no milho geneticamente modificado em relação ao milho convencional;
- Folhas do milho MON810 constituem-se em substrato alimentar com menor qualidade nutricional para *S. frugiperda*, levando as lagartas a terem uma menor eficiência de conversão do alimento digerido (ECD) e a um maior custo metabólico;

- O milho MON810 apresenta menor intensidade de danos por lagartas de *S. frugiperda* do que o milho convencional, sendo portanto efetivo na redução populacional deste lepidóptero;
- O milho MON810 não afeta a qualidade dos ovos de *S. frugiperda* para serem parasitados por *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner, 1983);
- Seja em milho convencional ou geneticamente modificado, *S. frugiperda* mantém o padrão de oviposição, realizando posturas durante todo o período vegetativo da cultura;
- As características da postura de *S. frugiperda* no milho geneticamente modificado e convencional, com relação ao tamanho e número de camadas, são semelhantes;
- O parasitismo natural por *Trichogramma* spp. sobre ovos de *S. frugiperda* é semelhante para o milho MON810 e convencional;
- *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 é a espécie predominante sobre ovos de *S. frugiperda*, seja em milho convencional ou geneticamente modificado, representando 84,9 e 96,9%, respectivamente. *T. atopovirilia* é a segunda espécie mais freqüente, representando 11,3 e 2,1% em milho convencional e geneticamente modificado, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBIOS, 2002. Expressed material/ **Effect:** MON810 case study. <<http://www.agbios.com>>. (15 Nov. 2002).
- ALI, A.; LUTTRELL, R. G.; PITRE, H. N.; DAVIS F. M. Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. **Environmental Entomology**, v. 18, n. 5, p. 881-885, 1989.
- ALTIERI, M. A.; LEWIS, W. J.; NORDLUND, D. A.; GUELDNER, R. C.; TODD, J. W. Chemical interactions between plants and *Trichogramma* wasps in Georgia soybean fields. **Protection Ecology**, v. 3, p. 259-263, 1981.
- ALVAREZ, J. A. R.; SANCHEZ, G. G. Variation en el numero de instares de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 9, n.1/4, p. 43-49, 1983.
- ALVAREZ, L. R.; ROA, F. G. Comportamiento parasítico de *Telenomus* sp. em *Spodoptera frugiperda*. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 21, n. 4, p. 191-196, 1995.

- ARMSTRONG, C. L.; PARKER, G. B.; PERSHING, J. C.; BROWN, S. M.; SANDERS, P. R.; DUNCAN, D. R.; STONE, T.; DEAN, D. A.; DeBOER, D. L.; HART, J.; HOWE, A. R.; MORRISH, F. M.; PAJEAU, M. E.; 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**, v. 35, p. 550-557, 1995.
- ASHLEY, T. P.; ALLEN, J. C.; GONZALEZ, D. Successful parasitization of *Heliothis zea* and *Trichoplusia ni* eggs by *Trichogramma*. **Environmental Entomology**, v. 3, n. 2, p. 319-322, 1974.
- ASHLEY, T. R. Classification and distribution of fall armyworm parasites. **Florida Entomologist**, v. 62, p. 114-123, 1979.
- BAR, D.; GERLING, D.; ROSSLER, Y. Bionomics of the principal natural enemies attacking *Heliothis armigera* in cotton fields in Israel. **Environmental Entomology**, v. 8, p. 468-474, 1979.
- BARFIELD, C. S.; SMITH, JUNIOR. J. W.; CARLYSLE, C.; MITCHELL, E. R. Impact of peanut phenology on select population parameters of fall armyworm. **Environmental Entomology**, v. 9, n. 4, p. 381-384, 1980.
- BARRY, B. D.; DARRAH, L. L.; HUCKLA, D. L.; ANTONIO, A. Q.; SMITH, G. S.; O'DAY, M.H. Performance of transgenic corn hybrids in Missouri for insect control and yield. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 3, p. 991-999, 2000.
- BEEVERS, M.; LEWIS, W. J.; MILANI, N.; ZANATA, M. Preliminary accounts on the rearing of *Oencyrtus pityocampae* (Mercet) (Hym.; Encyrtidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 110, p. 121-127, 1991.

- BERTELS, A. Estudos da influência da umidade sobre a dinâmica de populações de lepidópteros, pragas do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 5, p. 67-79, 1970.
- BESERRA, E. B. Biologia, etologia e capacidade de parasitismo de *Trichogramma* spp. visando ao controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). Piracicaba, 2000. 132 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BLUMBERG, D.; NAVON, A.; KEREN, S.; GOLDENBERG, S.; FERKOVICH, S. M. Interactions among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), its larval endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 5., p. 1181-1186, 1997.
- BROWN, E. S.; DEWHURST, C. F. The genus *Spodoptera* (Lepidoptera, Noctuidae) in Africa and the Near East. **Bulletin of Entomological Research**, v. 65, p. 221 – 262, 1975
- BUNTIN, G. D.; LEE, D.; WILSON, D. M.; McPHERSON, R. M. Evaluation of YieldGard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn.. **Florida Entomologist**, v. 84, n. 1, p. 37-42, 2001.
- BURKNESS, E. C.; HUTCHION, H. C.; WEINZIERL, R. A.; WEDBERG, J. L.; WOLD, S. J.; SHAW, J. T. Efficacy and risk efficiency of sweet corn hybrids expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin for lepidopteran pest management in the Midwestern US. **Crop Protection**, v. 21, p. 157-169, 2002.

- BURKNESS, E. C.; HUTCHISON, H. C.; BOLIN, P. C.; BARTELS, D. W.; WARNOK, D. F.; DAVIS, D. W. Field efficacy of sweet corn hybrids expressing a *Bacillus thuringiensis* for management of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 1, p. 197-203, 2001.
- BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. Washington: USDA, 1962. 7 p.
- BURTON, R. L.; PERKINS, W. D. A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v. 65, n. 2, p. 385-386, 1972.
- CANETE, C. L.; FOERSTER, L. A. Egg parasitoids of *Helicoverpa zea* in southern Paraná, Brazil and rearing of *Trichogramma atopovirilia* on an alternative host. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., Foz do Iguassu, 2000. **Resumos**. Foz do Iguassu: SEB, 2000. p. 378.
- CARNEVALLI, P. C.; FLORCOVSKI, J. L. Efeito de diferentes fontes de nitrogênio em milho (*Zea mays* L.) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). **Ecossistema**, v. 20, p. 41-49, 1995.
- CARVALHO, R. P. L. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Piracicaba, 1970. 170p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.
- CASTRO, M. T.; PITRE, H. N. Development of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, from Honduras and Mississippi on sorghum or corn in the laboratory. **Florida Entomologist**, v. 71, n. 1, p. 49-55. 1988.

- CHILCUT, C. F.; TABASHNIK, B. F. Host-mediated competition between the pathogen *Bacillus thuringiensis* and the parasitoid *Cotesia plutellae* of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Environmental Entomology**, v. 26, n. 1, p. 38-45, 1997.
- CHRISTOU, P.; McCABE, D. E.; SWAIN, W. F. Stable transformation of corn callus by DNA-coated gold particles. **Plant Physiology**, v. 87, p. 671-674. 1988.
- COMBS JUNIOR, R. L.; VALERIO, J. R. Biology of the fall army-worm on four varieties of bermudagrass when held at constant temperatures. **Environmental Entomology**, v.9, n. 4, p. 393-396, 1980.
- CORTEZ, H. M.; TRUJILLO, J. A. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maiz. **Turrialba**, v. 44, n. 1, p. 1-9, 1994.
- CRÓCOMO, W. B.; PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de milho, trigo e sorgo por *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 29, n. 2, p. 225-260, 1985.
- CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. de. L. C.; MATOSO, M. J. **Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma***. Sete Lagoas: EMBRAPA, CNPMS, 1999. 40p. (Circular Técnica, 30).
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.3, p. 355-360, 1982.
- DAVIS, F. M.; NG, S. S.; Williams, W. P. **Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm**. Mississippi: USDA, 1992. 9p.

- DE MORAES, C. M. de; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. Examining plant-parasitoid interaction in tritrophic systems. **Anais Sociedade Entomológica da Brasil**, v. 29, n. 2, p. 189-203, 2000.
- DEMÉTRIO, C. G. B. Modelos lineares generalizados em experimentação agronômica. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 46.; SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 9., Piracicaba, 2001. **Resumos**. Piracicaba: ESALQ, 2001. p. 113.
- DEW, J. A. Fall armyworm *Laphygma frugiperda* (S. & A.). **Journal of Economic Entomology**, v. 6, n. 4, p.361-366. 1913.
- DUODU, Y. A.; BINEY, F. F. Growth, food consumption and food utilization of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) on four food-plants. **Bulletin of Entomological Research**, v. 71, p. 655-662, 1981.
- DYAR, H. G. The number of molts of lepidopterans larvae. **Pysche**, v.5, p.420-422, 1890.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG). **Recomendações técnicas para a cultura do milho**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1997. 204p.
- ESCALANTE, J. A. G. Contribución al conocimiento de la biología de *Heliothis zea* y *Spodoptera frugiperda*, en el Cusco. **Revista Peruana de Entomologia**, v. 17, n. 1, p.121-122, 1974.
- FAO. Production Yearbook. Roma: FAO, 2000. 260p. (FAO. Production, 54).

- FERRAZ, M. C. V. D. Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura do milho. Piracicaba, 1982. 80p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- FISCHHOFF, D. A.; BOWDISH, K. S.; PERLAK, F. J.; MARRONE, P. G.; McCORMICK, S. M.; NIEDERMEYER, J. G.; DEAN, D. A.; KUSANO-KRETZMER, K.; MAYER, E. J.; ROCHESTER, D. E.; ROGERS, S. G.; FRALEY, R. T. Insect tolerant transgenic tomato plants. **Bio/Technology**, v. 5, p. 807-813. 1987.
- FNP. CONSULTORIA & COMÉRCIO. **ACRIANUAL 2002**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2002. 536p.
- FONSECA, J. P. Lagartas nocivas as gamíneas. **O Biológico**, v. 9, n. 12, p. 411-414. 1943.
- FOX, L. R. Cannibalism in natural populations. **Annual review of Ecology and Systematics**, v. 6, p. 87-106, 1975a.
- FOX, L. R. Factors influencing cannibalism, a mechanism of populations limitations in the predator *Notonecta hoffmanni*. **Ecology**, v. 56, p. 933-941. 1975b.
- GARCÍA, J. L. A.; SIFONTES, J. L. A. **Parasitos de huevos de la palomilla del maiz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Las Villas: Universidade Central de Las Villas, p. 99-90, 1987.
- GASSEN, D. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 127 p.

- GILES, K. L.; HELLMICH, R. L.; IVERSON, C. T.; LEWIS, L. L. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize grain on *B. thuringiensis* susceptible *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 3, p. 1011-1016, 2000.
- GILL, S. S.; COWLES, E. A.; PIETRANTONIO, P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. **Annual Review of Entomology**, v. 37, p. 615-636. 1992.
- GILL, S. S. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n.1, p. 69-74. 1995.
- GOMES, S. M. Comparação de três hospedeiros alternativos para criação e produção massal de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. galloi* Zucchi, 1988. Piracicaba, 1997. 106p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- GREENBERG, S. M.; SUMMY, K. R.; RAULSTON, J. R.; NORDLUND, D. A. Parasitism of beet armyworm by *T. pretiosum* and *T. minutum* under laboratory and field conditions. **Southwestern Entomologist**, v. 23, n. 2, p. 183-188, 1998.
- GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomologist**, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.
- GUTIÉRREZ-MARTINEZ, A.; CÁZARES, C. L.; LARA, de. G. Z.; ROSAS, R. A. Fluctuacion poblacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Centro de Entomologia y Acarologia**, p. 167-174, 1989.
- HARRISON, F. P. Observations on the infestation of corn by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) with reference to plant maturity. **Florida Entomologist**, v. 67, n. 3, p. 333-335, 1984.

- HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 7. p. 183-206.
- HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. (Ed.). ***Biological control with egg parasitoids***. Wallingford: CAB International, 1994. p. 55-72.
- HELLMICH, R. L.; HIGGINS, L. S.; WITKOWSKI, J. F.; CAMPBELL, J. E.; LEWIS, L. C. Oviposition by european corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in response to various transgenic corn events. ***Journal of Economic Entomology***, v. 92, n. 5, p. 1014-1020, 1999.
- HOFFMANN, M. P.; WALKER, D. L.; SHELTON, A. M. Biology of *Trichogramma ostrinae* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) and survey for additional hosts. ***Entomophaga***, v. 40, n. 3/4, p. 387-402, 1995.
- HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. ***Microbiology Reviews***, v. 53, p. 242-255. 1989.
- HOTELLING, H. The generalization of Student's ratio. ***Annals of Mathematical Statistics***, v. 2, p. 360-378. 1931.
- HOY, C. W.; SHELTON, A. M. Feeding response of *Artogeia rapae* (Lepidoptera: Pieridae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) to cabbage leaf age. ***Environmental Entomology***, v. 16, p. 680-682, 1987.

- HOY, M. A.; HERZOG, D. C. **Biological control in Agricultural IPM system**. Orlando: Academic Press, 1985. 589 p.
- HUANG, F.; BUSCHMAN, L. L.; HIGGINS, R. A.; LI, H. Survival of Kansas dipel-resistant European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt and non-Bt corn hybrids. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 3, p. 614-621, 2002.
- HUNT, T. N. Monitoring and predicting fall armyworm infestations in North Carolina. **Florida Entomologist**, v. 63, n. 4, p. 361-364, 1980.
- JAMES, C. Global review of commercialized transgenic crops: 2000. Ithaca, NY: ISAAA, 2001. 110 p. (ISAAA, 23).
- JOHNSON, M. T. Interaction of resistant plants and wasp parasitoids of tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**. v. 26, p. 207-214, 1997.
- JOYNER, K.; GOULD, F. Development consequences of cannibalism in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**. v. 78, n.1, p. 24-28, 1985.
- JOYNER, K.; GOULD, F. Conspecific tissues and secretions as sources of nutrition. In: SLANSKY JUNIOR, F.; RODRIGUEZ, J. G. (Ed.) **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**. New York: John Willey, 1987. cap. 22, p. 697-719.
- KASTEN JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v. 53, n. 1, p. 68-78, 1978.

- KAZMER, D. J.; LUCK, R. F. Field tests of the size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ecology**, v. 76, n. 2, p. 412-425, 1995.
- KELLER, M. A. Influence of leaf surfaces on movents by the hymenopterous parasitoid *Trichogramma exiguum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 43, p.55-59, 1987.
- KLEIN, T. M.; FROMM, M. E.; GRADZIEL, T.; SANFORD, J. C. Factors influencing gene delivery into *Zea mays* cells by high-velocity microprojectiles. **Bio/Technology**, v. 6, p. 559-563. 1988a.
- KLEIN, T. M.; FROMM, M. E.; WEISSINGER, A.; TOMES, D., SCHAAF, S.; SLEETEN, M.; SANFORD, J. C. Transfer of foreign genes into intact maize cells using high velocity microprojectiles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, p. 4305-4309. 1988b.
- KLEIN, T. M.; HARPER, E. C.; SVAB, Z.; SANFORD, J. C., FROMM, M. E.; MALIGA, P. Stable genetic transformation of intact Nicotiana cells by the particle bombardment process. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 85, p. 8502-8505. 1988c.
- KLEIN, T. M.; WOLF, E. D.; WU, R.; SANFORD, J. C. High velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. **Nature**, v. 327, p. 70-73. 1987.
- KOGAN, M. Plant resistance in pest management. In: METCALF, R. L.; LUKMANN, W. H. (Ed.). **Introduction to insect pest management**. New York: Wiley-Interscience, 1975. p. 103-146.

- KOZIEL, M. G.; BELAND, G. L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N. B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAND, L.; DWASON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; LEWIS, K.; MADDOX, D.; McPHERSON, K.; MEGHJI, M. R.; MERLIN, E.; RHODES, R.; WARREN, G. W.; WRIGHT, M.; EVOLA, S. V. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. **Bio/Technology**, v. 11, p. 194-200, 1993.
- LABATTE, J. M. Within-plant distribution of fall armyworm (Lepidopteran: Noctuidae) larvae on corn during whorl-stage infestation. **Florida Entomologist**, v. 76, p. 437-446, 1993.
- LEUCK, D. B.; PERKINS, W. D. A method of estimating fall armyworm progeny reduction when evaluating control achieved host-plant resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 65, p. 482-483, 1972.
- LEWIS, W. J.; GROSS JUNIOR, H. R.; PERKINS, W. D.; KNIPLING, E. F. VOEGELÉ, J. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology**, v. 5, n. 3, p. 449-452, 1976.
- LIANG, K.; ZEGER, S. L. Longitudinal data analysis using generalized linear models. **Biometrika**, v. 73, p. 13-22. 1986.
- LIU, Y; TABASHINIK, B. E.; DENNEHY, T. J.; CARRIÈRE, Y.; SIMS, M. A.; MEYER, S. K. Oviposition on and mining in Bolls of Bt and non-Bt cotton by resistant and susceptible pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 1, p. 143-147, 2002.

- LÓPEZ, R.; FERRO, D. N. Larviposition response of *Myiopharus doryphorae* (Diptera: Tachinidae) to colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae treated with lethal and sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *tenebrionis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, p. 870-874, 1995.
- LORDELLO, A. L. L.; LARA, F. M.; PARRA, J. R. P. Preferência para a alimentação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera – Noctuidae) em sorgo, em condições de laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 9, n. 2, p. 219-241, 1980.
- LOZZIA, G. C.; MANACHINI, B. Effects of transgenic corn on egg parasitism of *Ostrinia nubilalis* Hübner, (Lepidoptera: Crambidae) by *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae). In: EGG PARASITOIDS FOR BIOCONTROL OF INSECT PESTS. INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 6., Italia, 2002. **Abstract**. Italy: University of Perugia, 2002. p. 41-42.
- LUCCHINI, F. Biologia da *Spodoptera frugiperda* (Smith e Abbot, 1797) (Lepidoptera. Noctuidade). Níveis de prejuízos e avaliação toxicológica de inseticidas para seu combate em milho. Curitiba, 1977. 114p. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
- LYNCH, R. E.; WISEMAN, B. R.; PLAINSTED, D.; WARNIK, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing Cry1A(b) toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm. **Journal Economic Entomology**, v. 92, n. 1, p. 246-252, 1999.
- MANTEL, N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. **Cancer Chemotherapy Reports**, v. 50, p. 163-170, 1966.

- MARTIN, P. B.; LINGREN, P. D.; GREENE, G. L.; GRISSELL, E. E. The parasitoid complex of three noctuids (Lep.) in a Northern Florida cropping system: seasonal occurrence, parasitization, alternate hosts, and influence of host-habitat. **Entomophaga**, v. 26, p. 401-419, 1981.
- MARTINELLI, S. Efeito de híbridos de milho Bt expressando toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berlier sobre insetos herbívoros e agentes de controle biológico em condições de campo. Riberão Preto, 2001. 139p. Tese (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- MASCARENHAS, V. J.; LUTTRELL, R. G. Combined Effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Environmental Entomology**, v. 26, p. 939-945, 1997.
- MELO, M.; SILVA, R. F. P. da. Influência de três cultivares de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16, n. 1, p. 37-49. 1987.
- MENESES, R.; CORDERO, V.; SANCHEZ, I. Oviposicion de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en dos variedades de arroz. **Cultivos Agroindustriales**, n. 2/3. p.91-93, 1991.
- MEYERS, H. B., JOHNSON, D. R.; SINGER, T. L.; PAGE, L. M. Survival of *Helicoverpa zea* Boddie on Bollgard® cotton. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCE, 2., Memphis, 1977. **Proceedings**. Memphis: National Cotton Council, 1997, p. 1269-1271.

- MIELITZ, L. R.; CORSEUIL, E.; SOARES, C. M. S. Efeito do germe-de-trigo e vitaminas em dieta artificial sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 15, p. 105-115, 1986.
- MIHN, J. A. Evaluating maize for resistance to tropical stem borers, armyworms, and earworms. In: TOWARD INSECT RESISTANT MAIZE FOR THE THIRD WORLD; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON METHODOLOGIES FOR DEVELOPING HOST PLANT RESISTANCE TO MAIZE INSECTS, Mexico, D. F., 1987. **Proceedings**. Mexico, D. F.: CIMMYT, 1987. p. 109-121.
- NALIM, D. M. Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. Piracicaba, 1991. 150p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- NEIL, K. A.; SPECHT, H. B. Field releases of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of corn earworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), egg populations on sweet corn in Nova Scotia. **Canadian Entomologist**, v. 122, p. 1259-1266, 1990.
- NELDER, J. A.; WEDDERBRUN, R. W. M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 135, p. 370-384, 1972.
- NOLDUS, L. P. J. J. Response of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* to the sex pheromone of its host *Heliothis zea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 48, p. 293-300. 1988.

- NOLDUS, L. P. J. J.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H.; van LENTEREN, J. C. Olfactometer and wind tunnel experiments on the role of sex pheromone of noctuid moths in the foraging behavior of *Trichogramma* spp. **Les Colloques de INRA**, v. 43, p. 223-238. 1988.
- OLIVEIRA, L. J.; PARRA, J. R. P.; CRUZ, I. Biologia da lagarta-do-cartucho em milho cultivado em solo corrigido para três níveis de alumínio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 157-166. 1990
- ORR, D. B.; LANDIS, D. A. Oviposition of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 4, p. 905-909, 1997.
- PAIR, S. D.; RAULSTON, J. R.; SPARKS, A. N.; MARTIN, P. B. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids: differential spring distribution and incidence on corn and sorghum in the southern United States and Northeastern Mexico. **Environmental Entomology**, v. 15, p. 342-348, 1986.
- PANSERA-DE-ARAÚJO, M. C. G.; CRUZ, I. B. M. da; CAVALHEIRO, M.; OLIVEIRA, A. K. de. Placement of noctuidae eggs (Lepidoptera) on soybean plants. **Annals of Entomological Society of America**, v. 92, n. 5, p. 702-706, 1999.
- PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 4. p. 121-150.
- PARRA, J. R. P.; CARVALHO, S. M. De. Biologia e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedades de feijão. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 12, n. 2, p. 305-319, 1984.

- PARRA, J. R. P.; ESTEVAM, R. C.; ZUCCHI, O. L. A. D. Biologia comparada de duas espécies de *Trichogramma* em dois hospedeiros e em diferentes temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11, Campinas, 1987. **Resumos**. Campinas: SEB, 1987, p. 258.
- PARRA, J. R. P.; SERRA, H. J. P.; LOPES, J. R. S.; SALES JÚNIOR, O. Metodologia para criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) para criação massal de *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, n. 2, p. 403-415, 1989.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; LOPES, J. R. S. Pragas do milho e seu controle. In: OSUNA, J. A.; MORO, J. R. (Ed.). **Produção e melhoramento do milho**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. p. 81-87.
- PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZU, A.R.; PARRA, J.R.P. (Ed.) **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole. 1991. cap. 2, p. 9-65.
- PARRA, J. R. P.; HADDAD, M. L. **Determinação do número de instares de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 49p.
- PASHLEY, D. P.; HARDY, T. N.; HAMMOND, A. M. Host effects on developmental and reproductive traits in fall armyworm strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 88, n. 6, p. 748-755, 1995.
- PATEL, P. N.; HABIB, M. E. M. Levantamento e eficiência de insetos parasitos de *Spodoptera frugiperda* (Abbot e Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de Agricultura**, v. 61, n. 1, p. 93-100, 1986.
- PEDIGO, L. P. **Entomology and pest management**. New York: MacMillan, 1989. 646p.

- PEFEROEN, M. Insect control with transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. In: CAROZII, N; KOZIEL, M. (Ed.). **Advances in insect control: the role of transgenic plants**. London: Taylor & Francis, 1997. p. 21-48.
- PENCOE, N. L.; MARTIN, P. M. Development and reproduction of fall armyworm on several wild grasses. **Environmental Entomology**, v. 10, n. 6, p. 999-1002, 1981.
- PERLAK, F. J.; DEATON, T. A.; ARMSTRONG, R. L.; FUCHS, R. L.; SIMS, S. R.; GREENPLATE, J. T.; FISCHHOFF, D. A. Insect resistant cotton plants. **Bio/Technology**, v.8, p. 939-943. 1990.
- PERLAK, F. J.; STONE, T. B.; MUSKOPF, Y. M.; PETERSEN, L. J.; PARKER, G. B.; McPHERSON, S. A.; WYMAN, J.; LOVE, S.; REED, G.; BIEVER, D.; FISCHHOFF, D.A. Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles. **Plant Molecular Biology**, v.22, p. 313-321. 1993.
- PIETRANTONIO; P. V.; FEDERICI, B. A.; GILL, S. S. Interaction of *Bacillus thuringiensis* endotoxins with the insect midgut epithelium. In: THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. (Ed.) **Parasites and pathogens of insects**. New York: Academic Press, 1993. v. 2, cap. 3, p. 55-79.
- PILCHER, C. D.; RICE, M. E. Effect of planting dates and *Bacillus thuringiensis* corn on the population dynamics of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 3, p. 730-742, 2001.
- PITRE, H. N.; HOGG, D. B. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. **Journal of the Georgia Entomology Society**, v. 18, n. 2, p. 182-187, 1983

- PITRE, H. N.; MULROONEY, J. E.; HOGG, D. B. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition: Crop preferences and egg distribution on plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, p. 463-466, 1983.
- POLIS, G. A. The evolution and dynamics of intraspecific predation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 12, p. 225-251, 1981.
- PRICE, P. W.; BOUTON, C. E.; GROSS, P.; McPHERON, B. A.; THOMPSON, J. A.; WEIS, A. E. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology System.** v. 11, p. 41-65, 1980.
- RAFFA, K. F. Effect of host plant on cannibalism rates by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Environmental Entomology**, v. 16, n.3, p. 672-675, 1987.
- RAIJ, B. van; CANTARELLA, H; QUAGGIO, J. A.; FURLAN, A. M. C. **Recomendação de adubação e calagem para o estado de São Paulo**, 2. ed. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundação IAC, 1999. 285p.
- RUEDA, O. C. P.; VICTORIA, C. A. C. Evaluation de la efetividad de *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) en maiz, en condiciones del Valle del Cauca. Palmira, 1993. 64p. Monografia (Graduação) - Universidade Nacional da Colombia.
- SÁ, L. A. N. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, visando avaliar o seu potencial para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. Piracicaba, 1991. 107p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- SANDERS, P. R.; LEE, T. C.; GROTH, M. E.; ASTWOOD, J. D.; FUCHS, R. L. Safety Assessment of Insect-Protected Corn. In: THOMAS, J. A.; FUCHS, R. L. (Ed.). **Biotechnology and Safety Assessment**, 2. ed. New York: Academic Press, 1998. cap. 10, p.241-256.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT[®], user's guide**: version. 8.2. North Carolina, 1999.
- SCHULER, T. H.; POPPY, G. M.; KERRY, B. R.; DENHOLM, I. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. **Bio/Technology**, v. 17, p. 210-216. 1999a.
- SCHULER, T. H.; POTTING, R. P.; DENHOLM, I.; POPPY, G. M. Parasitoid behaviour and *Bt* plants. **Nature**, v. 400, p. 825-826. 1999b. Scientific Correspondence.
- SCRIBER, J. M.; SLANSKY JUNIOR, F. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology**, v. 26, p. 183-211, 1981.
- SEDLACEK, J. D.; KOMARAVALLI, S. R.; HANLEY, A. M.; PRICE, B. D.; DAVIS, P. M. Life history attributes of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) and angoumois grain moth (Lepidoptera: Gelechiidae) reared on transgenic corn kernels. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 2, p. 586-592, 2001.
- SIFONTES, J. L. A.; OBREGON, J. R.; CUELLAR, S. R.; GARCÍA, J. L. A. Hábitos oviposicionales de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en plantas de arroz. **Revista Centro Agrícola**, v. 15, n. 2, p. 11-15, 1988.
- SILVA, F. M. A.; FOWLER, H. G.; LEMOS, R. N. S. Parasitismo em lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith), na região do Triângulo Mineiro, MG. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 235-242, 1997.

- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D. VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia de insetos**. Ceres: São Paulo, 1976. 419 p.
- SLANSKY JUNIOR, F. Insect nutrition: an adaptationist s perspective. **Florida Entomologist**, n. 65, n. 1, p.145-171, 1982.
- SOUZA, A. M. L.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimento por *D. saccharalis*, *H. virescens* e *S. frugiperda* em duas temperaturas. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 11-17, 2001.
- STEIN, C. P.; PARRA, J. R. P. Uso da radiação ultra violeta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16, n. 1, p. 229-231, 1987.
- TIRONI, P.; CIOCIOLA, A. I. Parasitismo natural de ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) por 2 espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em culturas de milho em Lavras, MG. **Ciência e Prática**, v. 18, n. 1, p. 61-67, 1994.
- TOONDERS, T. J.; SÁNCHEZ, J. L. C. Evaluacion de la efectividad de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el combate de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae): recomendaciones para su uso. **Centro de Entomologia y Acarologia**, p. 75-84, 1987.
- VAN EMDEN, H. F. The role of host plant resistance in insect pest management. **Bulletin of Entomologist Research**, v. 81. p. 123-126, 1991.
- VAN EMDEN, H. F. Host plant-aphidophaga interactions. **Agriculture. Ecosystem Enviromental**, v. 52, p. 3-11, 1995.

- VELEZ, C. M.; SIFUENTES, J. A. El gusano cogollero de maiz: su combate con insectidas granulados en el valle Apatzingan, Midi. **Agricultura Tecnica en Mexico**, v. 2, n. 7, p. 315-317, 1967.
- VENDRAMIM, J. D.; FANCELLI, M. Efeito de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 17, p. 141-150, 1988. Suplemento.
- VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 3. p. 67-119.
- VINSON, S. B. Host selection by insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 21, p. 109-134. 1976.
- VINSON, S. B. Parasitoid-host relationship. In: BELL, W. J.; CARDÉ, R. T. (Ed.). **Chemical Ecology of Insect**. New York: Chapman & Hall, 1984. p. 205-233.
- WADDILL, VAN H.; WHITCOMB, W. H. Release of *Telenomus remus* (Hym.: Scelionidae) against *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) in Florida, U.S.A. **Entomophaga**, v. 27, n. 2, p. 159-162, 1982.
- WALDBAUER, G. P. The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology**, v. 5, p. 229-288, 1968.
- WALKER, K. A.; HELLMICH, R. L.; LEWIS, L. C. Late instar European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) tunneling and survival in transgenic corn hybrids. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 4, p. 1276-1285, 2000.

- WILLIAMS, W. P.; BUCKLEY, P. M.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J. A. Evaluation of transgenic corn for resistance to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae), fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), and southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in a laboratory bioassay. **Journal of Agriculture Entomology**, v. 15, n. 2, p. 105-112, 1998.
- WILLIAMS, W. P.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J. A.; DAVIS, F. M.; BUCKLEY, P. M. Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. **Crop Science**, v. 37, p. 957-962, 1997.
- WISEMAN, B. R.; WILLIAMS, W. P.; DAVIS, F. M. Fall armyworm: resistance mechanisms in selected corns. **Journal of Economic Entomology**, v. 74, n. 5, p. 622-624. 1981.
- WRIGHT, D.J.; VERKERK, R.H.J. Integration of chemical and biological control systems for Arthropods: evaluation in a multitrophic context. **Pesticide Science**. v. 44, p. 207-218. 1995.
- ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R. C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. cap 2. p. 41-66.

O milho MON810 é um produto experimental e está em fase de avaliação pelos órgãos competentes.