**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Interações do algodão Bt, do inseticida imidacloprid e do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin

José Bruno Malaquias

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

José Bruno Malaquias
Engenheiro Agrônomo

**Interações do algodão Bt, do inseticida imidacloprid e do predador *Podisus nigrispinus*
Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda*
(J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin**

Orientador:
Prof. Dr. **CELSO OMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Malaquias, José Bruno

Interações do algodão Bt, do inseticida imidacloprid e do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin / José Bruno Malaquias . - - Piracicaba, 2012.

76 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Algodão 2. Controle biológico 3. Inseticidas 4. Insetos predadores 5. Integração
6. Lagartas 7. Plantas transgênicas I. Título

CDD 633.51
M237i

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

Ao meu Pai Severino Rodrigues da Silva (*in memoriam*), a minha Mãe Maria de Lourdes Malaquias, por todo amor, carinho e investimento, e a minha noiva Flávia Queiroz de Oliveira, pelo amor e companhia, eu dedico e ofereço.

AGRADECIMENTOS

Ao senhor Deus pela força concedida na caminhada do dia-a-dia, e pelas grandiosas portas que tem me aberto.

Ao Programa de Pós-Graduação de Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão de bolsa de mestrado.

Ao Professor Celso Omoto, pela amizade, por toda compreensão, valiosa orientação, e sábios ensinamentos.

Ao Pesquisador Francisco de Sousa Ramalho (Embrapa Algodão), pela amizade, sinceras palavras, pela excelente orientação e dedicação para concretização desse trabalho, e todo suporte durante toda minha jornada acadêmica.

Ao Professor Wesley A. C. Godoy, pelo espaço concedido para execução dos bioensaios no Laboratório de Ecologia de Insetos, pela revisão dos “*outputs*” das análises dos dados de resposta funcional, pela agradável companhia e por todos os ensinamentos.

Ao Engenheiro Agrônomo Marcelo Correa Alves (CIAGRI/ESALQ-USP), pela colaboração na revisão das rotinas das análises dos dados.

A todos os Professores do Departamento de Entomologia e Acarologia pelo comprometimento e seriedade na formação profissional, e pelos conhecimentos transmitidos.

À Embrapa Algodão, pelo envio de espécimes de *Podisus nigrispinus*, e pela liberação para condução de bioensaios e término de disciplinas do curso de mestrado.

À Chefe Administrativa da Embrapa Algodão Maria Auxiliadora Barros Lemos e ao Chefe de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação Carlos Alberto Domingues da Silva, por todo apoio e incentivo para concretização da conclusão do curso de mestrado.

À Alice Queiroz de Oliveira, pela valiosa companhia em todos os momentos dessa caminhada.

Ao Licenciado em Ciências Agrárias Francisco Sales Fernandes e ao Biólogo Antônio Rogério do Nascimento, por todo auxílio prestado no envio de espécimes de *P. nigrispinus* e manutenção das criações estoques de *S. frugiperda* na Embrapa Algodão.

Ao Estudante de Agronomia Ricardo Ferraz Silveira (ESALQ/USP), pela companhia e amizade construída, pela valiosa contribuição durante a execução dos bio-ensaios e manutenção das criações estoques.

Aos amigos Danielle Thomazoni, Juliana Neves, Ana Paula Battel, Rafael Moral, Vitor Pavinato, pela agradável convivência e por todo apoio prestado durante o curso de mestrado.

A todos os estudantes (Alex Poltronieri, Bruna Merlin, Daniel Bernardi, Dariane Souza, Everaldo Alves, Juliano Farias, Karina Albernaz, Nadia Casarin, Oderlei Bernardi, Oscar Neto, Rebeca Ribeiro, Renato Lacerda, Rodrigo Sorgatto), e funcionários (Eloísa Salmeron, Gislaíne Campos e Ricardo Sesso) que integram o Laboratório de Resistência de Insetos a Táticas de Controle da ESALQ/USP, pela amizade e adorável convivência.

Ao Pesquisador José Ednilson Miranda (Embrapa Algodão), pelo apoio prestado e compreensão durante minha ausência nos campos experimentais da Embrapa Algodão – Núcleo do Cerrado.

Ao Pesquisador Stephen Foster (Department of Plant and Invertebrate Ecology, Rothamsted Research, Harpenden, Herts, UK), pelo envio de artigos científicos que foram úteis no enriquecimento da discussão desse trabalho.

Aos Funcionários da Fundação Goiás: Julimar Paniago, João Paulo Trajano, Vânia Lúcia, Manoel Messias, por todo apoio prestado durante minha ausência nos campos experimentais da Embrapa Algodão – Núcleo do Cerrado.

Às bibliotecárias Eliana Maria Garcia e Silvia Maria Zinsly da Biblioteca Central (ESALQ/USP), pelo auxílio na formatação deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
3.2 Criação de <i>Podisus nigrispinus</i>	37
3.3 Respostas funcionais	38
3.3.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de <i>S. frugiperda</i> a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	38
3.3.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	39
3.4 Análise dos dados	40
4 RESULTADOS	43
4.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de <i>S. frugiperda</i> a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	43
4.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	49

5 DISCUSSÃO	57
5.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de <i>S. frugiperda</i> a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	57
5.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais de <i>P. nigrispinus</i>	58
6 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS	65

RESUMO

Interações do algodão Bt, do inseticida imidacloprid e do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin

O presente estudo objetivou identificar as interações do Algodão Bt que expressa Cry1Ac (Bollgard®), com o predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae), no manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cyhalothrin em duas condições: ausência e presença do inseticida imidacloprid. Foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda* provenientes das seguintes condições: linhagens resistentes (1) e suscetíveis (2) a lambda-cyhalothrin alimentadas de folhas de algodoeiro Bollgard® (DP 404 BG); e linhagens resistentes (3) e suscetíveis (4) a lambda-cyhalothrin alimentadas de folhas de algodoeiro não transgênico (cultivar DP4049). Os resultados dessa pesquisa revelaram que na ausência de imidacloprid, independente do tratamento, o comportamento de predação foi melhor representado pelo tipo III de resposta funcional, pois a taxa de ataque aumentou linearmente em todas as condições estudadas ($a = bN$). Houve diferenças entre o tempo de manipulação (T_h) de fêmeas do predador que receberam lagartas suscetíveis a lambda-cyhalothrin, previamente alimentadas de algodão não transgênico, em relação aos demais tratamentos. Na densidade de 16 lagartas/predador, o número de lagartas predadas por fêmeas de *P. nigrispinus* foi significativamente superior em lagartas resistentes a lambda-cyhalothrin, alimentadas de algodão Bt ou não Bt, em relação às lagartas suscetíveis alimentadas de algodão não Bt. Além do mais, se constatou que quando foram ofertadas 16 lagartas de *S. frugiperda* ao predador, o número de indivíduos predados foi significativamente inferior em lagartas suscetíveis a lambda-cyhalothrin que foram alimentadas de algodão não Bt, em relação as que receberam lagartas previamente alimentadas de algodão Bt. Na presença de imidacloprid, constatou-se que o comportamento de predação de *P. nigrispinus* foi afetado pelo neonicotinóide imidacloprid, sendo a curva assintótica do tipo II, a que melhor descreveu os dados da sua resposta funcional. Na presença de imadacloprid, o tempo de manipulação (T_h) de fêmeas do predador não diferiu entre os tratamentos estudados. Todavia, a taxa de ataque foi representada por um decréscimo em função do aumento da densidade de lagartas ofertadas. Independente do tratamento (linhagem de *S. frugiperda* ou cultivar de algodão), o número de lagartas de *S. frugiperda* predadas por fêmeas de *P. nigrispinus* quando na exposição ao imidacloprid, foi significativamente inferior, especialmente na densidade de 16 lagartas/predador. Diante destes resultados, a pesquisa reforça que o custo adaptativo associado à resistência a lambda-cyhalothrin, assim como a cultivar de algodão Bt afetaram a taxa de predação de lagartas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus*, somente na maior densidade testada (16 lagartas/predador). O comportamento de predação de lagartas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* foi negativamente afetado pelo inseticida imidacloprid.

Palavras-chave: Integração; Controle biológico; Algodão transgênico; Manejo da resistência; Lambda-cyhalothrin; Lagarta militar

ABSTRACT

Interactions of Bt cotton, of insecticide imidacloprid, and the predator *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) on the resistance management of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to lambda-cyhalothrin

This study aimed to identify the interactions of Bt cotton expressing Cry1Ac (Bollgard®), with the predator *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae), in resistance management of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to lambda-cyhalothrin in two conditions: absence and presence of the insecticide imidacloprid. Larvae of *S. frugiperda* were used from the following conditions: resistant (1) and susceptible (2) strains to lambda-cyhalothrin fed Bollgard® cotton leaves (DP 404 BG); and resistant (3) and susceptible (4) strains to lambda-cyhalothrin fed non-transgenic cotton leaves (cultivar DP4049). The results of this study revealed that in the absence of imidacloprid, independent of treatment, the behavior of predation was best represented by the type III of functional response, because the attack rate increased linearly in all conditions studied ($a = bN$). There were differences between the handling time (T_h) of females of the predator who received larvae of *S. frugiperda* susceptible to insecticides previously fed non-transgenic cotton in relation to other treatments. The density of 16 larvae/predator, the number of larvae preyed by female of *P. nigrispinus* was significantly higher in larvae of *S. frugiperda* resistant to lambda-cyhalothrin, fed on Bt cotton or non-Bt compared to susceptible larvae fed non Bt cotton. Moreover, when we offered 16 larvae of *S. frugiperda* to the predator, the number of larvae predate were significantly lower in larvae susceptible to lambda-cyhalothrin that were fed non-Bt cotton, compared to larvae that were previously fed on transgenic cotton. In the presence of imidacloprid, the predatory behavior of *P. nigrispinus* was affected by the neonicotinoid imidacloprid, and the asymptotic curve type II was the one that best described the data of the functional response. In the presence of imadacloprid, handling time (T_h) of females of the predator did not differ among treatments. However, the attack rate was represented by a decrease due to the increase of the density of larvae offered. Regardless of the treatment (strain of *S. frugiperda* or cultivar of cotton), the predation larvae of *S. frugiperda* by females of *P. nigrispinus* when exposed to imidacloprid was significantly lower, especially at density of 16 larvae/predator. Given these results, the research reinforces the fitness cost associated to lambda-cyhalothrin resistance as well as Bt cotton affected the rate of predation on larvae of *S. frugiperda* by females of *P. nigrispinus*, only at the highest density tested (16 larvae/predator). The behavior of predation on larvae of *S. frugiperda* by females of *P. nigrispinus* was affected by insecticide imidacloprid.

Keywords: Integration; Biological control; Transgenic cotton; Resistance management; Lambda-cyhalothrin; Fall armyworm

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação do tubo de vidro (Figura A), arenas (Figuras B e C) com folha de algodão e fêmea de *P. nigrispinus* utilizadas nos ensaios de resposta funcional. Piracicaba, 2011 39
- Figura 2 - Resposta funcional de fêmeas de *P. nigrispinus* a diferentes densidades de lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis a lambda-cyhalothrin em algodão Bt (—▲—) e não Bt (—◊—), e resistentes a lambda-cyhalothrin em algodão Bt (···◆···) e não Bt (—▲—) 45
- Figura 3 - Resposta funcional de fêmeas de *P. nigrispinus* a diferentes densidades de duas linhagens de *S. frugiperda*, em algodão Bt e não Bt, na ausência (—◆—) e presença de imidacloprid (—◊—) 55
- Figura 4 - Número de lagartas predadas (Média ± EP) em diferentes densidades de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* na presença e ausência do inseticida imidacloprid. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre as densidades), e minúscula (comparação entre o grupo controle e imidacloprid, dentro da mesma densidade), não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P= 0,05) 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados da análise de regressão logística polinomial da proporção de lagartas predadas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)	44
Tabela 2 - Constante “b” da equação de Holling e tempo de manipulação (T_h) (média $\pm$ EP), intervalos de confiança estimados pela equação de Holling, indicando resposta funcional tipo III de fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> alimentadas de lagartas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> alimentadas em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) ¹	46
Tabela 3 - Resumo da análise de variância do número de lagartas predadas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> por <i>P. nigrispinus</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)	46
Tabela 4 - Número médio de lagartas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> predadas por <i>P. nigrispinus</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) ¹	48
Tabela 5 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de <i>S. frugiperda</i> suscetível a lambda-cyhalothrin por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em algodão Bt na ausência ou presença de imidacloprid	49
Tabela 6 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de <i>S. frugiperda</i> suscetível a lambda-cyhalothrin por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em algodão não Bt na ausência ou presença de imidacloprid	50
Tabela 7 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de <i>S. frugiperda</i> resistente a lambda-cyhalothrin por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em algodão Bt na ausência (controle) ou presença de imidacloprid	50

Tabela 8 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de <i>S. frugiperda</i> resistente a lambda-cyhalothrin por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em algodão não Bt na ausência ou presença de imidacloprid	51
Tabela 9 - Parâmetros (Média $\pm$ EP), intervalos de confiança estimados pela equação de Holling, indicando resposta funcional tipos II e III de <i>Podisus nigrispinus</i> alimentado de linhagens de <i>Spodoptera frugiperda</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) na ausência e presença de imidacloprid	53
Tabela 10 - Resumo da análise de variância da predação de lagartas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> por <i>P. nigrispinus</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) na ausência e presença de imidacloprid	54
Tabela 11 - Predação (Média $\pm$ EP) de lagartas de linhagens de <i>S. frugiperda</i> por fêmeas de <i>P. nigrispinus</i> em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) ¹	56

1 INTRODUÇÃO

O uso irracional de alguns inseticidas orgânicos sintéticos tem posto em risco a saúde humana e causado problemas ambientais. Conseqüentemente tem sido crescente o interesse no desenvolvimento de estratégias alternativas para o manejo de insetos-praga (KOGAN, 1998). Uma técnica contemporânea apropriada e que tem recebido atenção é o desenvolvimento de toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) como inseticidas. As primeiras plantas transgênicas contendo gens de *B. thuringiensis* foram produzidas nos Estados Unidos da América na década de 90. Os Organismos Geneticamente Modificados - OGMs oferecem novas opções para o incremento da disponibilização de fontes alimentares e para a indústria têxtil, necessárias em países em desenvolvimento. Uma questão levantada por pesquisadores é como materiais transgênicos irão interagir com as demais táticas de controle e com organismos alvo e não-alvo dessas toxinas.

No Brasil a liberação comercial da primeira cultivar de algodão Bt ocorreu em 2005, com a aprovação do algodão Bollgard®, que expressa a toxina Cry1Ac de Bt. O algodão transgênico Bollgard®, que contém o gene *cry1Ac* da bactéria *B. thuringiensis*, é diretamente tóxico para os lepidópteros *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), as quais são integrantes do complexo de lagartas desfolhadoras e de frutos da cotonicultura brasileira (COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBio, 2005). Pelo fato de proporcionar reduções nas aplicações de inseticidas, o algodão transgênico que confere resistência a esses insetos, pode ser uma ferramenta para o manejo da resistência de insetos a inseticidas convencionais.

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga, que em função das suas características de seus ataques, o seu controle é praticamente baseado na utilização de inseticidas. Desta maneira, as diferentes populações de *S. frugiperda* têm sofrido constantes pressões de seleção por inseticidas nos diferentes sistemas agrícolas, o que possivelmente tem contribuído e acarretado o estabelecimento de populações resistentes a diversas classes de inseticidas no Brasil, tais como piretróides (DIEZ; OMOTO, 2001). A herança da resistência de *S. frugiperda* ao piretróide lambda-cyhalothrin é autossômica e recessiva (DIEZ; OMOTO, 2001). A evolução da resistência tende a ser retardada quando a herança é recessiva; contudo, uma vez que a resistência atinge uma alta frequência, o restabelecimento da suscetibilidade na ausência da pressão seletiva pode se tornar mais

demorado, pois os indivíduos resistentes que sobreviverem à aplicação de um inseticida seriam todos homozigotos (ROUSH; McKENZIE, 1987). Plantas de algodão Bt podem ser de extrema importância dentro do contexto de manejo da resistência a inseticidas (KENNEDY, 2008). Na região Nordeste da China, após oito anos de uso do algodão Bt para o controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), ocorreu reversão da resistência a lambda-cyhalothrin, phoxim e endosulfan. Este aumento na suscetibilidade de *H. armigera* é esperado devido à baixa pressão de seleção ocasionada pela redução na frequência de aplicações de inseticidas na cultura do algodão Bt para controlar a praga naquela região (WU; GUO, 2004).

A presença de inimigos naturais efetivos da praga no agroecossistema é um dos fatores bioecológicos que deve ser considerado no manejo da resistência de insetos a inseticidas. Os efeitos do algodão transgênico em insetos predadores generalistas podem ser positivos pela redução de aplicações indiscriminadas de pesticidas, aumentando desta maneira, a densidade populacional desses inimigos naturais (ROMEIS et al., 2008). O crescimento e desenvolvimento do algodão Bt no Brasil podem ser afetados pelo constante ataque de pragas não-alvo. Em outros países é evidente o risco potencial de facilitação indireta do aumento de populações de artrópodes sugadores, como afídeos, mirídeos e ácaros, assim como o desencadeamento de pragas que não possuíam o status de pragas primárias em plantios agrícolas com uso de inseticidas. Isto é possivelmente, devido ao fato de que na ausência de competição entre organismos-praga de status superior, as pragas secundárias poderiam assumir outros status, havendo, portanto, necessidade de aplicações de inseticidas, tais como neonicotinóides, para insetos sugadores (STEWART et al., 2001).

Em plantios de algodão, lagartas desfolhadoras representam um importante grupo de pragas; junto aos surtos destas pragas é freqüente a ocorrência de pentatomídeos predadores, alimentando-se de diferentes presas, o que contribui, em grande parte, para a manutenção do equilíbrio biológico (RAMALHO, 1994). O predador generalista *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) tem se destacado como agente potencial de regulação de populações de inúmeras espécies de lepidópteros que ocorrem na cotonicultura brasileira, inclusive do noctuídeo *S. frugiperda* (BASTOS; TORRES, 2003; ZANUNCIO et al., 2008).

A toxina Cry1Ac expressa em algodão Bollgard® (Monsanto) tem baixa toxicidade a *S. frugiperda* (RAMALHO et al., 2011). Dada a importância do predador generalista *P. nigrispinus* como agente biorregulador de espécies de lepidópteros que ocorrem na

cotonicultura brasileira, e sabendo-se que em plantios de algodão transgênico é necessária a realização de aplicação de inseticidas sintéticos para o controle de insetos sugadores e mastigadores, justifica-se a realização de estudos envolvendo as interações *S. frugiperda* e o predador *P. nigrispinus* em algodão geneticamente modificado, assim como a compatibilidade de *P. nigrispinus* com inseticidas sintéticos.

As respostas funcionais são empregadas para avaliar o potencial do inimigo natural em diversas situações. A dinâmica predador-presa é diretamente influenciada pela relação entre a densidade de presas disponível e o número de presas atacadas, a qual é um dos fatores determinantes na atuação dos predadores no controle biológico (HOLLING, 1959). Um aumento na disponibilidade de presas pode levar o predador a um aumento de consumo, uma vez que as oportunidades de encontro e ataque serão maiores no tempo, até sua saciação (O'NEIL, 1990). A resposta funcional de *P. nigrispinus* a *S. frugiperda* depende da capacidade de defesa dessa presa como também de sua densidade (ZANUNCIO et al., 2008). Este aspecto comportamental do predador pode ser influenciado pela sua idade, tipo, qualidade da presa, planta hospedeira da presa e condições climáticas (COLL; RIDGWAY, 1995), ou ainda pela presença ou ausência de inseticidas (POLETTI; MAIA; OMOTO, 2007). Pouco se sabe, até então, sobre as respostas funcionais do predador neotropical *P. nigrispinus* em função de presas que desenvolvem em plantas hospedeiras transgênicas, juntamente com aplicações de inseticidas e de linhagens de lagartas (presas) resistentes a essa tática de controle.

Visando fornecer informações relevantes para a efetivação de programas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas, o presente trabalho procurou identificar as interações do algodão Bt que expressa Cry1Ac (Bollgard®) com o predador *P. nigrispinus*, no manejo da resistência de *S. frugiperda* a lambda-cyhalothrin. Para isto foram estudadas as implicações de linhagens de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin, alimentadas com folhas de algodão Bt, submetidas ou não a aplicações do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais do predador *P. nigrispinus*. A cultivar de algodão transgênico Bollgard® (DP 404 BG), contendo a versão sintética de um gene de *B. thuringiensis* que expressa a endotoxina Cry1Ac foi selecionada conforme aprovação na Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), adoção por produtores de algodão no Brasil, especialmente do Oeste da Bahia e ela não promove mortalidade para os insetos do complexo de sugadores que ocorrem nessa cultura. A escolha de inseticida neonicotinóide imidacloprid se deve ao fato desta classe está entre as mais utilizadas pelos cotonicultores

brasileiros, inclusive em plantios de algodão transgênico. A escolha do predador *P. nigripinus* se deve ao fato desse inseto ser um importante agente de controle de populações de lagartas desfolhadoras na cotonicultura brasileira.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico e Perspectivas do Algodão Bt no Brasil

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) foi estimulado inicialmente durante os anos de 1960, como um resultado da falha dos inseticidas orgânicos sintéticos no controle de pragas, em especial na cultura de algodão, a qual, em algumas regiões necessitava de pelo menos 12 aplicações por safra para o controle de pragas (ROMEIS et al., 2008). A obtenção de sucesso em programas de MIP na cotonicultura está diretamente relacionada com o conhecimento da bioecologia dos insetos-praga, seus inimigos naturais e da cultura alvo (RAMALHO, 1994). O conceito chave do MIP é a integração das estratégias do manejo de pragas, desde que essas sejam compatíveis.

O algodão geneticamente modificado tem mostrado como uma das principais alternativas sócio-ecológicas para o agronegócio têxtil na região Centro-Oeste do Brasil, pois gera emprego e renda para produtores rurais e industriais, como também reduz o uso de inseticidas convencionais no controle de pragas que comprometem o cultivo de algodão. O algodão transgênico Bt vem sendo cultivado comercialmente há mais de uma década, e tem sido considerado como a principal ferramenta utilizada no manejo de lagartas desfolhadoras nos principais países produtores dessa cultura. No Brasil, na safra 2009/2010 foram cultivados 116.000 hectares de algodão Bt (POLANCZYK, 2010), enquanto que na safra 2010/2011 foram plantados 600.000 hectares dessa cultura (Serviço Internacional para a Aquisição de Aplicações em Agrobiotecnologia – ISAAA, 2012).

Plantas de algodão geneticamente modificadas expressam genes de proteínas tóxicas Cry produzidas pela bactéria gram-positiva, *B. thuringiensis*. A bactéria *B. thuringiensis* produz inclusões protéicas durante sua esporulação, conhecidas como δ -endotoxinas, que apresentam atividade tóxica a algumas ordens de insetos (GILL; COWLES; PIETRANTONIO, 1992). As proteínas são expressas no tecido verde, dependendo do promotor, também podem ser encontradas no pólen, raízes e outros tecidos. Algumas das vantagens da utilização de plantas que expressam toxinas produzidas por Bt são: sua especificidade aos insetos sensíveis, seu efeito não poluente ao meio ambiente, sua inocuidade aos mamíferos e vertebrados e a ausência de fitotoxicidade (WHITELEY; SCHNEPF, 1986).

Além das δ -endotoxinas *B. thuringiensis* produz as toxinas: α -exotoxinas, β -exotoxina e Vip3A (FAUST; BULLA Jr., 1982). As toxinas do grupo δ -endotoxinas, também conhecidas

como Cry, apresentam peso molecular variando de 65 a 138 kDa e são um dos formadores do cristal protéico; o processo de formação desse cristal está ligado à esporulação. O cristal é formado a partir do segundo estágio da esporulação e é liberado quando as células são lisadas (MONNERAT; BRAVO, 2000). As δ -endotoxinas constituintes dos cristais são protoxinas solubilizadas e proteoliticamente convertidas em polipeptídeos menores no trato digestivo das larvas suscetíveis. Esses polipeptídeos associam-se a receptores específicos de ligação nas microvilosidades apicais das células do intestino dos insetos, causando lise osmótica por meio da formação de poros na membrana (SCHNEPF et al., 1998). O espectro de atividade inseticida dessas toxinas é estreito devido ao seu modo de ação (FIUZA et al., 1996).

Na Austrália, Estados Unidos da América, México e Canadá, o algodão transgênico (Bollgard[®] - Evento MON531) vem sendo cultivado e comercializado desde 1996; essa biotecnologia tem sido aceita na China, África do Sul, Japão, Argentina, Nova Zelândia, Indonésia, Colômbia, Índia, União Européia, Filipinas e Coreia do Sul (FITT, 2008). Com base em estudos de análise de risco realizados em outros países, a liberação comercial da primeira cultivar de algodão transgênico no Brasil ocorreu em 2005, com a aprovação do algodão Bollgard[®] (Monsanto), que expressa a toxina Cry1Ac nas folhas, sementes, pólen e nas raízes. A proteína é expressa durante todo o ciclo das plantas, com concentrações inferiores a 4 mg/g de tecido fresco nas folhas jovens e menos de 2 mg/g em sementes frescas. A expressão de Cry1Ac tende a diminuir com o avanço da fenologia do algodoeiro (GREENPLATE et al., 1999).

Em virtude do espectro de ação ao pequeno número de lagartas-alvo do algodão Bollgard[®], em 2009, houve no Brasil a liberação comercial de duas variedades que expressam duas proteínas tóxicas piramidadas, o algodão Bollgard II[®] (Monsanto) e o algodão Widestrike (Dow AgroSciences). O algodão Bollgard II[®] expressa as delta-endotoxinas Cry1Ac e Cry2Ab2, que são específicas e tóxicas a lagartas de alguns lepidópteros incluindo *S. frugiperda* e outras espécies do gênero *Spodoptera* (SIVASUPRAMANIAM et al., 2008), além das pragas-alvo do algodão Bollgard[®], ou seja, *A. argillacea*, *H. virescens*, e *P. gossypiella*. A expressão de Cry2Ab2 é conferida pela sua elevada concentração e de forma contínua durante todo ciclo do algodão Bollgard[®] II (GREENPLATE et al., 2003). O algodão Widestrike[®] (Dow AgroSciences) é resistente a *H. virescens*, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), *P. gossypiella*, *S. frugiperda*, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *A. argillacea* e *Pseudoplusia includens*

(Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), conferida pelos genes Cry1F e Cry1Ac piramidados (CTNBio, 2009). Recentemente foi aprovada no Brasil a liberação comercial do evento designado algodão TwinLink[®] resistente aos insetos *A. argillacea*, *H. zea*, *H. virescens*, *Spodoptera* spp, *P. gossypiella* e *P. includens*, e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio; esse evento é pirimidado e herdou do parental T304-40, os genes *cry1Ab* e *bar* e do parental GHB119, os genes *cry2Ae* e *bar* (CTNBio, 2010). A expressão de duas proteínas tóxicas confere maior espectro de ação para o controle de lepidópteros-praga e possibilita, em alguns casos, retardar a evolução da resistência de pragas-alvo a toxinas expressas pelo algodão Bt. A resistência é uma característica hereditária. A resistência envolve a sobrevivência e reprodução diferencial de organismos expressos à pressão de seleção que resultaria na mortalidade da maioria dos indivíduos de uma população (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986).

Devido à expressão contínua das toxinas inseticidas, as plantas resistentes a insetos exercem uma elevada pressão de seleção sobre as populações de insetos-alvo. Dentre as consequências imediatas da resistência de insetos às proteínas inseticidas expressas pelas plantas Bt, tem-se a perda dessa tecnologia no MIP, acarretando na possibilidade de restrição ao seu uso e o aumento no uso de inseticidas convencionais (ANDOW, 2008). A principal estratégia de manejo proposta, como filosofia do MIP, tem sido a de “alta dose da toxina associada à área de refúgio”, em consonância com o monitoramento da resistência, ações educacionais e plano de mitigação. A não utilização adequada dessas táticas propostas tem levado a diversos casos de resistência (BERNARDI et al., 2011). Storer et al. (2010) registraram resistência de *S. frugiperda* à toxina Cry1F presente em milho, em Porto Rico. Dhurua e Gujar (2011) detectaram na Índia, resistência de *P. gossypiella* a algodão que expressa Cry1Ac de forma isolada ou Cry1Ac em combinação com Cry2Ab2. Enquanto que Gassmann et al. (2011), também constataram em campo uma linhagem de *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) resistente a milho Bt que expressa Cry3Bb1 ou Cry34/35Ab1. No entanto, no Brasil são incipientes os casos de resistência de qualquer praga a toxinas Bt em campo.

O crescimento e desenvolvimento do algodão geneticamente modificado no Brasil podem ser afetados pelo constante ataque dos insetos não alvo, como dos pulgões *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), das brocas *Eutinobothrus brasiliensis* (Hambleton) (Coleoptera: Curculionidae) e *Conotrachelus denieri* Hustache (Coleoptera: Curculionidae), dos tripes *Frankliniella* spp. (Thysanoptera: Thripidae), dos percevejos *Dysdercus* spp. (Hemiptera: Pyrrhocoridae),

Gargaphia torresi Lima (Hemiptera: Tingidae), *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera: Cydnidae) e *Atarsocoris brachiariae* Becker (Hemiptera: Cydnidae), da lagarta rosca *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), do bicudo *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) e da mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae); portanto, mesmo com o plantio de algodão geneticamente modificado, aplicações de inseticidas ainda são necessárias para o controle dessas pragas. Todavia, os afídeos juntamente com outros artrópodes sugadores são umas das principais preocupações em algodão transgênico, devido a danos diretos pela sucção do floema, e indiretos pela transmissão de vírus fitopatogênicos (SUJII et al., 2008). Em outros países, como na China, é evidente o risco potencial de facilitação indireta do aumento de populações de insetos sugadores, como do afídeo *A. gossypii*, dos mirídeos *Lygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae), *Adelphocoris fasciaticollis* Götze (Hemiptera: Miridae) e *Adelphocorise lineolatus* Reuter (Hemiptera: Miridae), o que tem levado aos produtores realizarem aplicações de inseticidas, tais como neonicotinóides, para o controle dessas pragas.

2.2 Utilização de Plantas Bt no Manejo da Resistência de Pragas a Inseticidas

O elevado número de aplicações de inseticidas na cultura do algodão tem despertado interesse por pesquisadores, produtores e empresas no manejo da resistência de pragas a inseticidas, como uma parte integrante em programas de MIP nessa cultura. No entanto, estudos concentrados nessa área são bastante escassos em condições brasileiras (MARTINELLI; OMOTO, 2006).

A resistência a inseticidas é um processo evolutivo, o qual é afetado por diferentes fatores genéticos e bioecológicos ligados a pragas-alvo e por fatores operacionais relativos ao produto químico e a sua utilização. A evolução da resistência é uma consequência do controle de pragas, isto porque as atuais práticas de manejo de pragas são idealizadas e colocadas em prática com o objetivo único de reduzir a população de uma praga mediante o aumento da mortalidade ou pela diminuição da fecundidade dos insetos. Possíveis diferenças na sobrevivência e ou fecundidade entre os indivíduos de uma população, após a utilização de alguma prática de manejo, pode resultar na seleção de insetos resistentes a táticas de controle (GOULD, 1991).

O manejo da resistência é um importante componente dos programas de MIP. As bases para o manejo da resistência estão na manipulação das diferentes estratégias de uso dos inseticidas e dos componentes bióticos e abióticos dos agroecossistemas, que podem auxiliar

na prevenção ou ainda retardar a evolução da resistência. Além do manejo por ataque múltiplo, o manejo por moderação e o manejo por saturação são estratégias para o manejo da resistência de pragas a inseticidas e plantas Bt. O manejo por moderação tem por objetivo reduzir a pressão de seleção por meio da redução na frequência de aplicação de inseticidas, pulverização localizada, aplicação de inseticidas mais seletivos a inimigos naturais e que sejam menos persistentes, aplicação do produto no estágio da praga que seja mais vulnerável ao controle e a manutenção de áreas não tratadas para servirem de refúgios aos indivíduos suscetíveis; enquanto o manejo por saturação tem o objetivo de diminuir o valor adaptativo dos indivíduos resistentes por meio do uso substâncias que atuem como sinergistas ou pelo uso de altas doses dos inseticidas para que a resistência seja funcionalmente recessiva (GEORGHIOU, 1983).

O uso de altas doses de inseticidas tem vantagens do ponto de vista da genética da resistência (TABASHNIK, 1994), mas existem limitações ambientais e de saúde ocupacional para a aplicação dessa estratégia com inseticidas sintéticos. De acordo com Martinelli; Omoto (2006), a expressão de toxinas inseticidas de Bt nas plantas geneticamente modificadas tornou possível a utilização de altas doses como parte integrante do manejo da resistência. De acordo com Bernardi et al. (2011), a alta expressão da toxina torna ineficaz qualquer mecanismo que confere ao inseto níveis de resistência baixos ou moderados, além do mais, nessa condição é assumido que a maioria dos heterozigotos serão mortos. A expressão de alta-dose deve ser encarada naquela planta que expressa proteína em concentração de pelo menos 25 vezes superior a que seria necessária para matar 99% de uma população suscetível de referência (ANDOW, 2008). O atendimento do conceito de alta-dose é dependente da espécie. Bernardi et al. (2012), observaram que a cultivar de soja MON 87701 x MON 89788 atende ao conceito de alta dose para *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae); no entanto, não é de alta dose para *P. includens*. A geração de informações dessa natureza é de capital importância para elaboração e delineamento de táticas de manejo da resistência.

A introdução efetiva das táticas de manejo da resistência de insetos a inseticidas são imprescindíveis para que se alcance sucesso no manejo integrado de pragas, não sendo possível considerar estes conceitos separadamente (PESHIN et al., 2007). O manejo da resistência mediante táticas integradas tem procurado a preservação e incremento de fatores de mortalidade natural de insetos-praga, mediante o uso de um maior número possível de técnicas de combate, selecionadas com base em variáveis econômicas, ecológicas e sociológicas, visando ainda manter o nível populacional dos insetos-praga em condição

abaixo do nível de dano econômico, através da utilização simultânea de diferentes táticas de controle, de forma econômica e harmoniosa com o ambiente (ROMEIS et al., 2008).

A utilização de plantas geneticamente modificadas, além de incrementar a eficiência de controle de pragas, pode também permitir a otimização de estratégias de manejo da resistência de insetos, proporcionando prevenção, retardamento ou reversão da evolução da resistência a inseticidas (WU et al., 2005). A reversão da resistência normalmente acontece pela imigração de indivíduos suscetíveis, diluindo nos cruzamentos os genes da resistência e pela seleção contra os indivíduos resistentes na ausência do inseticida, ou por mudanças nos genes reguladores dos genes resistentes, por mudanças transcricionais ou pelas combinações desses fatores (GASSMANN et al., 2009).

Plantas de algodão Bt podem ser de extrema importância dentro do contexto de manejo da resistência a inseticidas (ONSTAD, 2008; PESHIN et al., 2007). Na região Nordeste da China, após oito anos de uso do algodão Bt para o controle de *H. armigera*, houve reversão da resistência a lambda-cyhalothrin, phoxim e endosulfan, não indicando resistência cruzada a esses inseticidas e a toxina Cry1Ac (WU et al., 2005). Isto já era esperado, devido à baixa pressão de seleção ocasionada pela redução na frequência de aplicações de inseticidas na cultura do algodão Bt para controlar a praga naquela região (WU; GUO et al., 2004).

2.3 Interações do Algodão Geneticamente Modificado com o Controle Biológico

Plantas resistentes a insetos juntamente com o controle biológico podem atuar como táticas complementares em programas de manejo integrado de pragas (BOIÇA Jr.; CAMPOS, 2010). Os efeitos do algodão transgênico em insetos predadores generalistas podem ser positivos pela redução de aplicações indiscriminadas de pesticidas, aumentando desta maneira, a densidade populacional desses inimigos naturais. O reduzido uso de inseticidas juntamente com a atividade seletiva das toxinas produzidas por Bt, resultam em um ambiente mais favorável para os inimigos naturais. De uma maneira geral, diversos estudos têm documentado compatibilidade do algodão transgênico com o complexo de inimigos naturais presentes nessa cultura (KENNEDY, 2008).

A cultura do algodoeiro no Brasil apresenta uma elevada biodiversidade (RAMALHO, 1994). Aproximadamente 45 espécies de predadores e mais de 15 espécies de parasitóides estão associadas a essa cultura (PALLINI et al., 2006). Os efeitos do algodão transgênico em insetos não-alvo podem ser positivos pela redução de aplicações indiscriminadas de

pesticidas, aumentando desta maneira, a densidade populacional de inimigos naturais. Entretanto, o algodão transgênico pode afetar os inimigos naturais especialistas de forma indireta, atuando na remoção de ovos, larvas, e pupas de lepidópteros que servem como fontes alimentares e de substratos de oviposição para predadores e/ou parasitóides (LIU et al., 2000; LIU; WAN; GUO, 2002).

Em estudo conduzido por Cui e Xia (1999) revelou que densidades populacionais dos parasitóides *Trichogramma confusum* Viggiani (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Microplitis mediator* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), *Campoletis chloridae* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Litamastix* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) decresceram significativamente em plantios de algodão Bt. Algumas variações relacionadas a densidades de inimigos naturais entre cultivares Bt ou não Bt, podem depender do tipo de amostragem, da localização geográfica e do sistema de cultivo adotado. Estudos conduzidos em plantios de algodão no Brasil não têm revelado mudanças drásticas na comunidade de artrópodes presentes entre algodão Bt e não Bt (NUNES, 2010). Thomazoni et al. (2011) observaram que não ocorreram diferenças de abundâncias de larvas e adultos dos predadores *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), *Scymnus* sp. *Geocoris* sp. *Chrysoperla* sp. e do parasitóide *Catolaccus grandis* (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae) registradas nas cultivares de algodão Bt e não Bt. De forma similar, Naranjo (2005) não registrou diferença na densidade populacional do percevejo generalista *Geocoris* sp. em cultivares de algodão Bt em relação a não Bt, enquanto que Wan, Liu e Guo (2002) e Hagerty et al. (2005) observaram maior frequência de *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae) em algodão Bt em relação ao algodão não Bt. Entretanto, Men et al. (2003) registraram em algodão Bt, menor densidade populacional dos predadores *Scymnus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris* sp. e *Orius* sp.

Efeitos letais e sub-letais têm sido pesquisados em predadores que se alimentam de presas que utilizam algodão Bt como substratos alimentares. Em predadores pouco ou nenhum efeitos tem sido registrados. De acordo com Zhang et al. (2006a) a sobrevivência, comportamento e fecundidade de *Propylea japonica* Thunberg (Coleoptera: Coccinellidae), não foram afetados quando este predador recebeu afídeos que se alimentaram de algodão Bt. O ganho de peso de *P. japonica* foi superior quando se alimentou de larvas do herbívoro *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), considerado parcialmente suscetível às endotoxinas Cry1Ac e Cry1Ab; além disso, a sobrevivência larval foi superior em insetos que tiveram como presas àquelas que se alimentaram de Cry1Ac. O tempo de

desenvolvimento, sobrevivência e fecundidade de *P. japonica* não foi afetado via *A. gossypii* pelo algodão Bt (ZHANG et al., 2006b).

2.4 Impactos das δ -endotoxinas em Heteroptera Predadores

Os efeitos das toxinas Cry podem depender do seu tipo e das suas concentrações expressas nas plantas (ZANGERL et al., 2001). Resultados conflitantes têm sido registrados sobre os efeitos de endotoxinas sob parâmetros da história de vida em predadores. Esses resultados conflitantes se devem provavelmente aos diferentes métodos utilizados, assim como a variação nas formas e quantidades de toxinas Bt utilizadas pelas pragas e seus predadores.

As principais presas utilizadas em estudos dessa natureza são afídeos e lagartas. Insetos herbívoros que se alimentam de células de plantas que contêm proteínas de Bt podem transmitir essas estruturas para predadores da ordem Hemiptera, contudo é provável que essas substâncias não afetem negativamente esses insetos em virtude da ausência de especificidade (GILL; COWLES; PIETRANTONIO, 1992). Afídeos não se alimentam de células de plantas, mas da seiva presente no floema, na qual as toxinas Bt não estão expressas (DUTTON et al., 2002). Espécies que pertencem ao complexo das lagartas desfolhadoras, as toxinas Bt são limitadas pelos receptores no epitélio do seu intestino médio, após o seu rearranjo estrutural (GILL; COWLES; PIETRANTONIO, 1992).

Em estudo conduzido em casa de vegetação no Brasil por Fernandes et al. (2011), foi evidenciado que *A. gossypii* responde diferentemente a algodão Bt quando comparado a sua isolinha, desde que o número de afídeos alados e ápteros encontrados por planta da cultivar de algodão Bt foi menor do que o encontrado na sua isolinha. Essas diferenças no número de pulgões encontrados nas cultivares de algodão Bt e sua isolinha são provavelmente devidas a modificações genéticas, uma vez que plantas de algodão Bt secretam menos aminoácidos e açúcares solúveis do que plantas não transgênicas (YAN et al., 2007).

Pentatomídeos Asopinae são insetos zoofitófagos que ocorrem comumente em plantios de algodão, predando larvas de noctuídeos. Diversas espécies de predadores onívoros utilizam plantas como fontes alimentares e também como substratos para oviposição (MALAQUIAS et al., 2010a), o que podem ser acometidos pelo algodão Bt pela aquisição das suas toxinas ou serem afetados pela baixa qualidade nutricional de suas presas. Entretanto, Torres e Ruberson (2008) registraram que o algodão Bt não afetou o período de desenvolvimento, sobrevivência

ninfal, peso corporal de adultos de ambos os sexos, período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea e número de ninfas/fêmea de *Podisus maculiventris* Say (Hemiptera: Pentatomidae) via *S. exigua*.

O algodão Bt também não interferiu no tempo de desenvolvimento ninfal de *Geocoris punctipes* (Say) (Hemiptera: Lygaeidae), a longevidade de fêmeas, o número de ovos por fêmea, período de pré-oviposição, período de pós-oviposição e razão sexual de *G. punctipes* (TORRES; RUBERSON; ADANE, 2006). De acordo com Ponsard; Gutierrez; Mills (2002), a longevidade média dos predadores *Orius tristicolor* (White) (Hemiptera: Anthocoridae) e *G. punctipes* foi significativamente afetada pela toxina Cry 1Ac, presente no algodão Bt, enquanto que, não foram encontrados efeitos para *Nabis* sp. (Hemiptera: Nabidae) e *G. punctipes*. Armer; Berry; Kogan (2000), também reportaram que batata (*Solanum tuberosum*) geneticamente modificada, com presença de *B. thurigiensis*, não afetou a sobrevivência de *Nabis* sp.

O incremento dos níveis de expressão e do modo de distribuição de *B. thurigiensis* em plantas de milho transgênico, aumenta o seu potencial para afetar os insetos não-alvo. A proteína Cry1Ab, expressa em milho Bt, é específica para lepidópteros e possui alta atividade contra *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae). Entretanto, Pilcher et al. (1997) não observaram efeitos na mortalidade e desenvolvimento de *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). Zhang et al. (2008) verificaram que o algodão Bt não influenciou no tempo de duração do primeiro ao terceiro instar de *Orius sauteri* (Wakayama) (Hemiptera: Anthocoridae). Entretanto, o tempo de duração do quarto instar e a sobrevivência desse predador foram afetados pelo algodão Bt. Além disso, esses pesquisadores verificaram que a duração média do período de pré-oviposição e de oviposição, além da longevidade média e fecundidade de *O. sauteri* não foram afetados pelo algodão Bt. Em milho, Zwahlen et al. (2000), não encontraram efeitos da toxina Cry1Ab em ninfas de *Orius majusculus* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) via tripes. Salama; Zaki (1984) verificaram efeitos negativos de Bt nas densidades de *Orius albidipennis* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae) e *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera: Anthocoridae) em algodão, assim como, Zwahlen et al. (2000), não encontraram efeitos de milho Bt em ninfas de *O. majusculus*.

2.5 Interações de *Spodoptera frugiperda* com Táticas de Controle

2.5.1 Bioecologia de *S. frugiperda*

Nas últimas décadas, o complexo de lagartas do gênero *Spodoptera* tem sido alvo de uma vasta busca de informações sobre as interações desses insetos com suas táticas de controle. Dentre as espécies pertencentes a esse complexo, *S. frugiperda* tem merecido destaque especial em todas as regiões das Américas, por ser uma praga polífaga e causar severos danos nas suas culturas hospedeiras.

Spodoptera frugiperda é uma praga migratória e endêmica no Hemisfério Ocidental, sendo a planta de milho, o principal hospedeiro dessa praga (BARROS; TORRES; BUENO 2010). A elevada capacidade de dispersão dos adultos dessa praga permite que este inseto se dissemine rapidamente ao longo da faixa de distribuição de suas plantas hospedeiras (SPARKS, 1979). Em grande parte do continente americano, esse inseto ocorre como sério problema e tem provocado prejuízos a várias culturas de capital importância (YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003).

No Brasil, além das culturas do algodão e do milho já foram relatados prejuízos consideráveis provocados pelo ataque desse inseto em outras culturas tais como plantas de arroz, amendoim, soja, sorgo, trigo, hortaliças e cana de açúcar (SARAN; SANTOS, 2007). A ocorrência de infestações desse inseto-praga é limitada a regiões de clima quente do continente americano, não sendo registrada a presença de diapausa em nenhum de seus estágios de desenvolvimento, o que provém a necessidade de associação a uma planta hospedeira mesmo sob condições de baixas temperaturas e curtos regimes de luz (SPARKS, 1979).

Estudos relacionados à complexidade genética e estruturação de populações têm permitido a otimização de programas de manejo da resistência de insetos a táticas de controle em diversos países agrícolas. A seleção local frente ao fluxo gênico na diferenciação de populações de *S. frugiperda* está relacionada com as variações na suscetibilidade a inseticidas utilizados para o seu controle, assim como associados a plantas hospedeiras e ao modelo de produção utilizado em cada região (YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003). Raças de *S. frugiperda* associadas às culturas do milho e do arroz foram confirmadas no Brasil (BUSATO et al., 2004; MACHADO et al., 2008). Por outro lado, em populações provenientes das culturas do algodão e do milho do Centro-Oeste do Brasil, Martinelli et al. (2007) observaram

um substancial fluxo gênico e uma baixa variabilidade entre populações coletadas nas duas culturas, não existindo estruturação das populações ligadas às plantas do milho e de algodão.

2.5.2 Interações de *S. frugiperda* com o Controle Químico

Em função das características de seus ataques e da severidade das infestações de *S. frugiperda* em suas plantas hospedeiras, o controle dessa praga é praticamente baseado na utilização de inseticidas químicos. Uma das principais dificuldades para o agronegócio do algodão no Brasil está relacionada com o controle de *S. frugiperda*, especialmente devido à resistência dessa praga a grande parte dos inseticidas registrados comercialmente. A resistência a inseticidas e suas conseqüências comprometem diretamente os princípios do MIP, devido à maior contaminação do meio ambiente por defensivos agrícolas, a destruição de inimigos naturais e a elevação dos custos para o controle de pragas. A evolução de resistência aos inseticidas em pragas do algodão tem sido identificada mundialmente em diferentes grupos de insetos-praga.

As constantes pressões de seleção ocasionadas por inseticidas às populações de *S. frugiperda* têm contribuído para o estabelecimento de populações resistentes a diferentes classes de inseticidas, tais como orgafofosforados, piretróides, inibidores de biosíntese de quitina e as spinosinas (MARTINELLI; OMOTO, 2006); isto tem motivado os produtores a utilizarem maior número de aplicações, com doses mais elevadas ou até mesmo misturando os produtos de forma inadequada. Razões de resistência de 2 a 216 vezes de *S. frugiperda* para piretróides, de 2 a 271 vezes para fosforados e de 192 vezes para cabarmatos foram identificadas por Yu (1991). Em particular ao piretróide lambda-cyhalothrin, Diez-Rodriguez e Omoto (2001) verificaram razão de resistência de aproximadamente 13 vezes.

A herança da resistência de *S. frugiperda* ao piretróide lambda-cyhalothrin é autossômica e recessiva (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001), pelo fato de ser recessiva a sua evolução tende a ser retardada (ROUSH; McKENZIE, 1987), juntamente com a sua característica de polifagia que também colabora no retardamento da evolução da resistência a inseticidas devido à imigração de indivíduos suscetíveis provenientes de áreas ocupadas com o cultivo de outras culturas e não tratadas com defensivos agrícolas (GEORGHIOU; TAYLOR, 1986). Por outro lado, uma vez que a resistência recessiva atinge uma alta frequência, o restabelecimento da suscetibilidade na ausência da pressão seletiva pode se tornar mais demorado, pois os indivíduos resistentes que sobrevivem à aplicação de um inseticida seriam todos homozigotos (ROUSH; McKENZIE, 1987).

2.5.3 Interações de *S. frugiperda* com Toxinas Cry

Estudos têm demonstrado a dificuldade de se encontrar isolados de Bt eficientes no controle de lagartas do complexo *Spodoptera* (CARNEIRO et al., 2009). Sendo que nos principais isolados eficientes estão presentes os genes *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2Aa* (SANTOS et al., 2009), *cry1E*, *cry1B*, *cry1*, *cry1Fb* e *cry1c* (VALICENTE; BARRETO, 2003), *cry1D*, *cry1C* (BRAVO et al., 1998). O gene *cry1Fa2* codifica para a proteína Cry1F, que é letal quando ingerida apenas por larvas de insetos da ordem lepidóptera, incluindo *S. frugiperda* (CARNEIRO et al., 2009). Para o controle de *S. frugiperda* no Brasil foram liberados eventos que contém as toxinas Cry1Ab; Cry1F; Cry1A.105 e Cry2Ab em milho, e Cry1Ac e Cry2Ab; e Cry1F e Cry1Ac, ambos piramidados em plantas de algodão.

O algodão Bollgard[®], que expressa Cry1Ac apresenta baixa atividade tóxica a *S. frugiperda*, como também uma resposta com alta tolerância à pressão de seleção a esta δ -endotoxina. Entretanto, de acordo com Ramalho et al. (2011), a cultivar de algodão Bt (DP 404 BG) a qual expressa Cry1Ac é de baixo valor nutricional para as lagartas de *S. frugiperda*. O algodão Bollgard[®] II tem mostrado uma atividade aditiva e independente de Cry1Ac e Cry2Ab, devido à ausência de resistência cruzada entre as proteínas, essa cultivar tem proporcionado uma maior atividade biológica e aumentado o espectro de ação contra espécies do gênero *Spodoptera*. Para *S. frugiperda*, a utilização desses dois genes piramidados confere um maior potencial ao controle dessa praga em relação a cultivares que expressam somente um (Cry1Ac) ou nenhuma delta-endotoxina. Todavia, o algodão Bollgard[®] II ainda tem sido suscetível a danos ocasionados por esses insetos, especialmente em épocas de florescimento. Portanto, aplicações de inseticidas ainda tem sido necessárias para o controle dessas pragas (STEWART et al., 2001).

Pesquisas têm revelado maior tolerância de *S. frugiperda* à proteína Cry2Ab em relação a outros lepidópteros-praga. A CL₅₀ registrada para *S. frugiperda* foi de 82 ppm, enquanto que a mesma concentração foi estimada em 0,549 ppm para *H. virescens* e 0,036 para *P. gossypiella* (SIVASUPRAMANIAM et al., 2008). Bioinseticidas à base de isolados de Bt não têm apresentado bons resultados no controle de *S. frugiperda* (POLANCZYK, 2010), por outro lado plantas de milho transgênico, expressando delta-endotoxinas, têm apresentado níveis razoáveis de resistência ao seu ataque, variando desde altamente efetiva (Cry 1F), intermediárias (Cry 1Ab e Cry 1Ac) e sem atividade alguma (Cry 9C) (WAQUIL et al., 2002).

De acordo com Waquil et al. (2004), as CL_{50} estimadas das toxinas Cry1Ab e Cry1F para *S. frugiperda* foram, respectivamente, de 689,81 ng/cm² e 36,46 ng/cm², sendo a toxina Cry1F mais eficiente no controle de *S. frugiperda* do que a Cry1Ab. No entanto, estudos também têm ressaltado a alta tolerância de *S. frugiperda* a essas toxinas em relação a outros lepidópteros-praga (MARÇON et al., 1999; De POLONIA et al., 2009). A atividade encontrada das toxinas Cry1Ab e Cry1F em *O. nubilalis* por Marçon et al. (1999) é de aproximadamente 90 e 5 vezes superiores, respectivamente, em relação a encontrada em *S. frugiperda* por Waquil et al. (2004). Efeitos sub-letais também foram reportados por Waquil et al. (2004) em *S. frugiperda*, pois a CL_{50} foi suficiente para inibir o acúmulo de biomassa das larvas em 91,61% e 89,81% para Cry1Ab e Cry1F, respectivamente.

Além do tipo de delta-endotoxina, de suas combinações na planta (piramidados ou não) ou da procedência geográfica da praga-alvo juntamente com o sistema de cultivo adotado, estudos têm demonstrado que a bioatividade de *B. thuringiensis* pode também depender dos seus isolados. Santos et al. (2009), estimaram CL_{50} de *B. thuringiensis* variando entre 0,09 (isolado BR37) a 1,6 µl/ml (isolado BR10) para *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), 0,22 (isolado S608) a 9,1 µl/ml (isolado 1905) para *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) e entre 0,35 (isolado BR45) a 2,2 µl/ml (isolado S997) para *S. frugiperda*. Além disso, as CL_{50} estimadas por esses pesquisadores das proteínas Cry1Aa; Cry1Ab; Cry1Ac e Cry2Aa foram respectivamente de 0,58; 0,37; 2,8 e 24 µl/ml para *S. cosmioides*, 75; 62; 21 e 1 µl/ml para *S. eridania* e 0,32; 0,88; 11 e 1,9 µl/ml para *S. frugiperda*. Portanto, além de *S. frugiperda*, pragas secundárias do complexo *Spodoptera* podem ser futuras preocupações frente à adoção dessas toxinas nessa cultura.

Trabalhando com populações da Colômbia de *S. frugiperda*, De Polonia et al. (2009), observaram que a tolerância desse inseto a toxina Cry1Ab tende a aumentar ao longo do tempo, com mortalidade decrescente de 96,66 a 76,66%, variando ao longo da fenologia do milho, sendo este fato altamente dependente do grau de pressão seleção a que é submetido. É provável a possibilidade da resistência cruzada entre Cry1Ac (algodão transgênico) e Cry1Ab (milho transgênico), pois essas proteínas interagem com os mesmos receptores da membrana do intestino médio das lagartas (MONNERAT; BRAVO, 2000). Propostas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a toxinas de *B. thuringiensis* têm considerado as duas culturas (milho e algodão), em uma determinada região, procurando-se definir as épocas de plantio e evitar os plantios sucessivos para retardar a evolução da resistência.

2.5.4 Interações *Spodoptera frugiperda* e Controle Biológico em Plantas Bt

Pesquisas conduzidas a campo têm demonstrado que milho Bt tem pouco ou nenhum efeito sobre populações de inimigos naturais, com exceção de parasitóides especialistas em pragas que são efetivamente controladas pelo milho geneticamente modificado, respondendo tanto ao declínio populacional quanto à intoxicação de seus hospedeiros (MARVIER et al., 2007).

Na cultura do algodão, os inimigos naturais também contribuem com um importante papel na supressão de populações de pragas. Diversos estudos têm demonstrado incremento dos fatores de mortalidade ocasionados pelo controle biológico natural (NARANJO et al., 2005; HEAD et al., 2005), pois nessa cultura ainda são sérios os efeitos de pragas secundárias como os afídeos e moscas brancas (NARANJO et al., 2008). Estudos realizados em milho geneticamente modificado no Brasil não constaram efeitos na frequência dos seguintes predadores de *S. frugiperda*: *Doru* spp. (Dermaptera: Forficulidae), *Euborellia* sp. (Dermaptera: Anisolabididae) e *Orius* spp. (CARNEIRO et al., 2009), ou na biologia do seu parasitóide *Trichogramma* spp. (FERNANDES, 2003).

Diversas espécies de predadores atuam como agentes controladores de lepidópteros-praga na cultura do algodoeiro, merecendo destaque percevejos do gênero *Podisus*, considerados eficientes inimigos naturais, inclusive de *S. frugiperda* (ZANUNCIO et al., 2008). Avaliações do impacto de presas de *S. frugiperda* que tiveram como dietas plantas de algodão geneticamente modificadas não têm revelado efeitos significativos sobre esse predador, no entanto é evidente a preocupação com relação ao efeito que essas dietas possam provocar redução na qualidade nutricional de suas presas (POLANCZYK, 2010). Jesus (2009) observou que lagartas de *S. frugiperda* mantidas em algodoeiro transgênico não afetaram a atração de *P. nigrispinus*, além disso, lagartas de *S. frugiperda* quando submetidas a regimes alimentares constituídos de folhas do cultivar transgênico NuOpal, proporcionaram maior taxa de consumo pelas ninfas e adultos de *P. nigrispinus*, entretanto se registrou um prolongamento em seu ciclo e menor viabilidade ninfal.

Ramalho et al. (2011) relataram que a cultivar de algodão Bt (DP 404 BG) a qual expressa Cry1Ac é de baixo valor nutricional para as lagartas de *S. frugiperda*. A tolerância de *S. frugiperda* a algumas cultivares de milho (WAQUIL et al., 2004) ou algodão transgênico (STEWART et al., 2001) oferece um custo adaptativo, o que pode comprometer a sua qualidade nutricional e afetar seus inimigos naturais, não se sabendo ainda como esse

custo adaptativo de *S. frugiperda* interage com a resistência a inseticidas e juntamente com o controle biológico natural ou aplicado. Portanto, informações nesse sentido ainda são incipientes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Ecologia e Entomologia Florestal (LEEF) do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/da Universidade de São Paulo - USP, Piracicaba, São Paulo.

3.1 Criação de *Spodoptera frugiperda*

As populações de *S. frugiperda* utilizadas nesse estudo foram provenientes de criação estoque mantidas no Laboratório de Resistência de Insetos a Táticas de Controle - LRITC. Lagartas foram mantidas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de altura), contendo dieta artificial formulada à base de feijão, germe de trigo e levedura de cerveja, conforme descrito por Parra (2001).

Pupas de *S. frugiperda* foram retiradas dos tubos e dispostas em placas de Petri e cobertas com um copo de plástico transparente até a emergência dos adultos. Após a emergência das mariposas, essas foram acondicionadas em gaiolas constituídas de tubos de PVC (10 cm×30 cm), revestidas internamente com papel jornal com fins de servir como substrato para oviposição. Os casais foram mantidos em sala de criação, a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de U.R. e fotofase de 12 horas. A alimentação fornecida aos adultos foi constituída de mel de abelha na concentração de 10% (m/v).

3.2 Criação de *Podisus nigrispinus*

Espécimes do predador *P. nigrispinus* foram provenientes de colônias de criação mantidas da Unidade de Controle Biológico da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB. Esses insetos foram mantidos a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de U.R. e fotofase de 12 horas (Figura 1). As condições de temperatura e de fotofase foram adequadas conforme recomendação de Medeiros et al. (2004) e Malaquias et al. (2009, 2010b), respectivamente.

Posturas de *P. nigrispinus* foram coletadas em intervalos de 48 horas. Os ovos foram acondicionados em placas de Petri, e mantidos nas mesmas condições climáticas utilizadas para ninfas e adultos acima citados. Os insetos foram mantidos em recipientes de plástico transparentes com capacidade para 250 e 500g, de acordo com a idade. Água e presa foram ofertados em intervalos de 24 horas. A água foi oferecida através de recipientes de vidro, esses foram vedados com chumaço de algodão. Lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes do Centro de Tecnologia Canavieira - CTC, e de *S.*

frugiperda, provenientes do LRITC e do Laboratório de Biologia de Insetos – LBI, foram utilizadas como alimento para *P. nigrispinus*.

3.3 Respostas Funcionais

Foi quantificado o impacto de cultivares de algodão Bt e sua isolinha, e das linhagens de *S. frugiperda* suscetível e resistente ao piretróide lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de *P. nigrispinus*. Foram utilizadas duas situações: ausência e presença de aplicações do inseticida neonicotinóide imidacloprid.

3.3.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de *S. frugiperda* a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de *P. nigrispinus*

Duas cultivares de algodão foram utilizadas nesses estudos: uma delas foi a cultivar geneticamente modificada (DP 404 BG), Bollgard® contendo a versão sintética de um gene de *B. thuringiensis* que expressa a endotoxina Cry1Ac, enquanto que a outra foi sem a presença da endotoxina (cultivar DP-4049). As cultivares foram fornecidas pela Monsanto, mediante acordo firmado entre essa empresa e o Laboratório de Resistência de Artrópodes e Táticas de Controle - LRATC. As cultivares foram plantadas em casa de vegetação, sob condições climáticas não controladas, usando-se baldes plásticos (capacidade para 10 l). Foi utilizado substrato orgânico em mistura com terra vegetal, na proporção 1:1. O material utilizado foi isento de aplicações de inseticidas e/ou acaricidas. Foram colhidas folhas do terço superior de plantas na fase vegetativa, sendo que aquelas que emitiram a primeira flor foram descartadas.

Os bioensaios foram conduzidos no LEEF do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP. As cultivares Bollgard® e algodão não transgênico (isolinha, sem conter o gene Cry1Ac), foram utilizadas nesse ensaio. Foram utilizados dois tipos de presas, lagartas de *S. frugiperda* de 3º instar, resistentes (I) e suscetíveis (II) a lambda-cyhalothrin, previamente alimentadas durante os seus 1º e 2º ínstaras das cultivares as quais foram submetidas, ou seja, foram utilizadas presas provenientes das seguintes condições: lagartas de *S. frugiperda* resistentes (1) e suscetíveis (2) a piretróide alimentadas de folhas de algodoeiro Bollgard® (DP 404 BG); lagartas de *S. frugiperda* resistentes (3) e suscetíveis (4) a lambda-cyhalothrin alimentadas de folhas de algodoeiro não transgênico (cultivar DP4049). Durante o 1º e 2º instares, as lagartas de *S. frugiperda*, receberam a sua alimentação em recipientes de plástico transparente com capacidade para 200g.

Fêmeas adultas recém-emergidas de *P. nigrispinus* foram mantidas em jejum por um período de 24 horas e em seguida transferidas, individualmente, para arenas de PVC (30 cm de altura e 27 cm de diâmetro), revestidas com tecido do tipo organza. No centro de cada arena foi colocada uma folha de algodão, coletada do terço superior da planta, em recipiente de vidro (idade da planta aproximada de 2 meses) (Figura 1A, 1B e 1C). As arenas foram mantidas nas condições de $23 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 12\%$ de U.R., e 12 horas de fotofase.

Figura 1 - Representação do tubo de vidro (Figura A), arenas (Figuras B e C) com folha de algodão e fêmea de *P. nigrispinus* utilizadas nos ensaios de resposta funcional. Piracicaba, 2011

Em intervalos de 24 horas foram fornecidas para cada fêmea de *P. nigrispinus*, lagartas de 3^o instar de *S. frugiperda* resistentes ou suscetíveis a lambda-cyhalothrin, e que tiveram como alimento folhas de plantas transgênicas ou não, nas densidades de 1, 2, 4, 8 e 16 lagartas por predador. Arenas com as mesmas densidades de lagartas foram utilizadas para avaliação da mortalidade de lagartas na ausência do predador, com fins de controlar a mortalidade ocasionada pelo canibalismo, assim como controle da mortalidade conferida pela planta transgênica. O delineamento experimental utilizado foi blocos ao caso distribuídos em esquema fatorial, sendo duas cultivares de algodão e dois tipos de presas (suscetível e resistente a lambda-cyhalothrin), com cinco repetições por densidade, sendo que cada unidade experimental (repetição) foi constituída de quatro fêmeas. Cada repetição foi considerada uma medida repetida no tempo.

3.3.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais de *P. nigrispinus*

Foi empregado o mesmo delineamento experimental, arenas, predador, cultivares, presas e respectivas densidades, descritas anteriormente. O ensaio com o inseticida neonicotinóide imidacloprid (Confidor 200 SC, Bayer CropScience), foi realizado de forma independente do ensaio anterior. Foram utilizadas, simultaneamente, duas vias de contaminação, sendo uma residual, e a outra ingestão, mediante contato do predador com o

resíduo do inseticida (i) e (ii) alimentação com lagartas contaminadas, após exposição da aplicação nas folhas, respectivamente, conforme método descrito por Torres e Ruberson (2004). As folhas foram oferecidas as lagartas durante um período de 12 horas, e em seguida essas lagartas foram oferecidas aos predadores (contato via ingestão). Os insetos foram confinados em arenas mencionadas anteriormente com folhas de algodoeiro, 2 horas após pulverização das folhas (contato residual).

A concentração adotada do inseticida foi de 500 ppm, sendo essa a concentração comercial recomendada para o controle de mosca branca *B. tabaci* na cultura do algodão. O inseticida foi aplicado nas folhas com auxílio da torre de Potter (Burkard Manufacturing, Rickmansworth, Herts, Inglaterra), calibrada a uma pressão de 10 psi (68,95 hPa). Em cada aplicação foi utilizado um volume de 2 ml de suspensão.

Para determinar a capacidade predatória de fêmeas de *P. nigrispinus* em função dos tratamentos, foram consideradas lagartas predadas aquelas em que foram encontradas lesões no tegumento, ausência de mobilidade e o conteúdo do corpo parcial ou totalmente sugado pelo predador.

3.4 Análise dos dados

Para determinação do tipo de resposta funcional, os dados de predação de ambos os ensaios, foram submetidos a análises de regressão logística polinomial (SAS Institute, 2002). A equação de Holling (1959) foi utilizada para estimar os parâmetros taxa de ataque (a), quando tipo II (equação 1) e constante (b), quando tipo III (equação 2), e tempo de manipulação (T_h), para ambos os casos (tipos II ou III). Para o modelo tipo II, foi utilizada a seguinte equação:

$$N_e = aNT / (1 + aNT_h) \quad (1)$$

Onde, N_e é o número de lagartas predadas; N é o número de lagartas oferecidas; a é a taxa de ataque; T é o tempo total disponível para o predador se alimentar da presa, e T_h é o tempo de manipulação. Em alguns casos a taxa de ataque aumentou linearmente ($a = bN$), sendo b uma constante, o que resultou em um modelo tipo III de resposta funcional:

$$N_e = bN^2T / (1 + bN^2T_h) \quad (2)$$

Os parâmetros tempo de manipulação (T_h) e taxa de ataque (a), e constante (b) foram estimados através de regressão não linear (método mínimos quadrados), utilizando o PROC

NLIN (SAS INSTITUTE, 2006). O coeficiente de determinação (R^2) de modelos não lineares não pode ser calculado como modelos lineares ($R^2 = 1 - (SQR/SQT)$), porque a maioria dos modelos não lineares não apresenta um intercepto identificável. Nesse caso, o SAS usa a soma dos quadrados não correlacionados ao invés da soma dos quadrados do total (FREUND; LITTELL, 1986). Os valores de R^2 desses modelos foram calculados como $R^2 = 1 - (S_y^2 / S_{td}^2)$, onde S_y^2 é a variância dos resíduos do modelo e S_{td}^2 é a variância das médias observadas das taxas de consumo.

Um modelo foi usado para testar a significância dos efeitos dos tratamentos e blocos e testar a interação cultivar *versus* tipo de presa *versus* densidade de lagartas, para o experimento 1, e a interação cultivar *versus* tipo de presa *versus* densidade de lagartas *versus* inseticida, para o experimento 2. Nesta análise, aplicou-se o procedimento GLM (SAS Institute, 2006). O teste de Student Newman Keuls ($P = 0,05$), foi utilizado para comparar a predação de lagartas de *S. frugiperda*, entre os tratamentos, nos ensaios 1, e 2.

4 RESULTADOS

4.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de *S. frugiperda* a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de *P. nigrispinus*

Na ausência do predador, independente da densidade, a sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* foi superior a 98%, não sendo por isto necessário realizar a correção da mortalidade, tanto pelo canibalismo ou pela mortalidade conferida pela planta Bt.

O sinal do coeficiente linear proveniente das análises de regressão logística polinomial foi usado para distinguir a forma da curva da resposta funcional, sendo que quando negativo ou positivo, indicou respostas do tipo II e III, respectivamente (FAN; PETITT, 1994). Os resultados do bioensaio I revelaram que o comportamento de predação foi melhor representado pelo tipo III de resposta funcional, pois independente do tratamento, o valor do coeficiente linear foi positivo (Tabela 1). Sendo assim, nas condições estudadas o comportamento de predação do predador *P. nigrispinus* foi melhor representado por uma curva sigmóide (Figura 2). O tipo de resposta funcional de *P. nigrispinus* não foi afetado pela cultivar de algodão ou pela linhagem de *S. frugiperda*.

Tabela 1 - Resultados da análise de regressão logística polinomial da proporção de lagartas predadas de linhagens de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)

Tratamento	Coeficiente	Estimativa	DP ¹	χ^2	P > χ^2
Linhagem suscetível a lambda-cyhalothrin					
Algodão Bt	Constante	- 0,0512	0,2239	0,05	0,8192
	Linear	1,0373	0,1576	43,30	0,0001
	Quadrático	- 0,0084	0,0010	0,11	0,7416
	Cúbico	0,0002	0,0381	0,03	0,8604
Algodão não Bt	Constante	0,0548	0,3307	0,03	0,8685
	Linear	0,8902	0,2328	14,62	0,0001
	Quadrático	0,0234	0,0374	0,39	0,5313
	Cúbico	- 0,0020	0,0015	1,70	0,1922
Linhagem resistente a lambda-cyhalothrin					
Algodão Bt	Constante	0,1036	0,2660	0,15	0,6970
	Linear	0,8395	0,1873	20,09	0,0001
	Quadrático	0,0228	0,0301	0,57	0,4485
	Cúbico	- 0,0010	0,0012	0,69	0,4056
Algodão não Bt	Constante	- 0,1810	0,2942	0,38	0,5385
	Linear	1,2039	0,2071	33,78	0,0001
	Quadrático	- 0,0590	0,0333	3,14	0,0764
	Cúbico	0,0027	0,0014	3,97	0,0463

¹DP= Desvio padrão

Figura 2 - Resposta funcional de fêmeas de *P. nigrispinus* a diferentes densidades de lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis a lambda-cyhalothrin em algodão Bt (—▲—) e não Bt (—○—), e resistentes a lambda-cyhalothrin em algodão Bt (···●···) e não Bt (—△—)

Os valores da constante “b” obtidos da equação disco de Holling na linhagem suscetível de *S. frugiperda* em algodão Bt e não Bt foram de 0,2502 e 0,3188, respectivamente, enquanto que na linhagem resistente a lambda-cyhalothrin em algodão transgênico e não transgênico foram de 0,2278 e 0,2076, respectivamente. Dessa forma, a taxa de ataque de fêmeas de *P. nigrispinus*, tendo com presa lagartas de *S. frugiperda*, aumentou linearmente em todas as condições estudadas ($a = bN$), sendo que não houve diferença significativa dessa variável entre as condições estudadas, pois houve sobreposição dos intervalos de confiança (IC 95%).

Os resultados desse bioensaio ainda revelaram que não houve sobreposição dos intervalos de confiança entre o tempo de manipulação (T_h) de fêmeas de *P. nigrispinus* que receberam lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis a inseticidas previamente alimentadas de algodão não transgênico em relação aos demais tratamentos, dessa forma fêmeas de *P. nigrispinus* investiram em um maior tempo no manuseio (T_h) em lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis a inseticida e alimentadas de algodão não transgênico ($T_h = 1,7208$ h) em relação àquelas da linhagem suscetível a inseticida alimentadas com algodão Bt ($T_h = 1,2336$ h) ou

ainda em relação aquelas resistentes a lambda-cyhalothrin alimentadas com algodão Bt ($T_h=1,1712$ h) ou não Bt ($T_h=1,1688$ h) (Tabela 2).

Analizando as curvas de resposta funcional de fêmeas de *P. nigrispinus* (Figura 2), constatou-se que o predador respondeu mais intensamente a baixas densidades de lagartas de *S. frugiperda*; ocorrendo um declínio na curva para as fêmeas de *P. nigrispinus* que tiveram como presas, lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis a lambda-cyhalothrin e alimentadas de algodão não Bt.

Tabela 2 - Constante “b” da equação de Holling e tempo de manipulação (T_h) (média $\pm$ EP), intervalos de confiança estimados pela equação de Holling, indicando resposta funcional tipo III de fêmeas de *P. nigrispinus* alimentadas de lagartas de linhagens de *S. frugiperda* alimentadas em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)¹

Linhagem/Cultivar	b ² (IC de 95%)	T_h (h) (IC de 95%)	R ²
<i>S. frugiperda</i> resistente a lambda-cyhalothrin			
Algodão Bt	0,2278 (0,1888 – 0,2668) a	1,1712 (1,0536 – 1,2888) b	0,98
Algodão não Bt	0,2076 (0,1715 – 0,2637) a	1,1688 (1,0080 – 1,3296) b	0,96
<i>S. frugiperda</i> suscetível a lambda-cyhalothrin			
Algodão Bt	0,2502 (0,2033 – 0,2971) a	1,2336 (1,1088 - 1,3608) b	0,97
Algodão não Bt	0,3188 (0,2628 – 0,3747) a	1,7208 (1,5912 - 1,8480) a	0,96

¹Valores seguidos pela mesma letra (dentro da coluna) não diferem entre si pela sobreposição dos intervalos de confiança (IC de 95%).

O número de lagartas predadas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* diferiu entre as cultivares testadas ($F_{1,76}=23,48$; $P<0,05$) (Tabela 3), sendo que o efeito da cultivar de algodão no número de lagartas predadas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* depende da densidade de lagartas e da linhagem de *S. frugiperda*, pois houve interação significativa entre cultivar de algodão *versus* densidade *versus* linhagem de *S. frugiperda* ($F_{4,76}=15,18$; $P<0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância do número de lagartas predadas de linhagens de *S. frugiperda* por *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) (continua)

Fonte de Variação	GL	F	P
Linhagem	1	8,77	0,0041

Tabela 3 - Resumo da análise de variância do número de lagartas predadas de linhagens de *S. frugiperda* por *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) (conclusão)

Fonte de Variação	GL	F	P
Cultivar	1	23,48	0,0001
Densidade	4	4317,15	0,0001
Bloco	4	2,11	0,0876
Linhagem*Cultivar	1	15,24	0,0002
Linhagem*Densidade	4	18,18	0,0001
Cultivar*Densidade	4	17,18	0,0001
Linhagem*Cultivar*Densidade	4	15,18	0,0001

Em nenhuma das densidades de lagartas oferecidas de *S. frugiperda* a fêmeas de *P. nigrispinus* não foi constatada diferença significativa do número de lagartas predadas de *S. frugiperda* da linhagem resistente a lambda-cyhalothrin, entre fêmeas que foram alimentadas de lagartas mantidas com algodão transgênico e não transgênico (Tabela 3). No entanto, na densidade de 16 lagartas/predador, o número de lagartas de *S. frugiperda* predadas por fêmeas de *P. nigrispinus* foi significativamente superior quando foram utilizadas presas resistentes a piretróide, alimentadas de algodão Bt (15,20 lagartas) ou não Bt (15,05 lagartas), em relação as lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis (12,20 lagartas) alimentadas de algodão não Bt. Também se constatou que na densidade de 16 lagartas/predador de *S. frugiperda*, o número de lagartas de *S. frugiperda* predadas por fêmeas de *P. nigrispinus* foi significativamente inferior quando foram utilizadas como presas, lagartas de *S. frugiperda* suscetíveis ao piretróide lambda-cyhalothrin e alimentadas de algodão não Bt (12,20 lagartas) em relação aquelas que receberam lagartas de *S. frugiperda* previamente alimentadas de algodão transgênico (15,18 lagartas) (Tabela 4). Portanto, o custo adaptativo associado à resistência a lambda-cyhalothrin assim como a cultivar de algodão Bt afetaram a predação de lagartas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus*, isto em condições de maiores densidades, neste caso, 16 lagartas/predador.

Tabela 4 - Número médio de lagartas de linhagens de *S. frugiperda* predadas por *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)¹

Densidade (prey/predator)	Linhagem suscetível a lambda-cyhalothrin		Linhagem resistente a lambda-cyhalothrin	
	Algodão Bt	Algodão não Bt	Algodão Bt	Algodão não Bt
1	1,00 ± 0,00aA	1,00 ± 0,00aA	1,00 ± 0,00aA	1,00 ± 0,00aA
2	1,95 ± 0,05aA	1,85 ± 0,10aA	1,80 ± 0,05aA	1,85 ± 0,03aA
4	4,00 ± 0,00aA	3,90 ± 0,10aA	3,82 ± 0,12aA	3,90 ± 0,06aA
8	7,80 ± 0,12aA	7,75 ± 0,13aA	7,75 ± 0,16aA	7,30 ± 0,31aA
16	15,18 ± 0,24aA	12,20 ± 0,41bB	15,20 ± 0,28aA	15,05 ± 0,27aA

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre cultivares de algodão Bt e não Bt, dentro da mesma linhagem de *S. frugiperda*), e minúscula (comparação entre linhagens de *S. frugiperda*, resistentes e suscetíveis a lambda-cyhalothrin, dentro da mesma cultivar de algodão), não diferem pelo teste Student Newman Keuls (P= 0,05).

4.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid na resposta funcional de *P. nigrispinus*

O comportamento de predação de fêmeas de *P. nigrispinus* foi afetado pela aplicação do neonicotinóide imidacloprid, pois na presença desse inseticida, o valor do coeficiente linear foi negativo, independente do tratamento (resposta funcional do tipo II), ou seja, linhagem de *S. frugiperda* suscetível em cultivar de algodão Bt (-0,0043) (Tabela 5) ou não Bt (-0,4402) (Tabela 6); linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin em cultivar de algodão Bt (-0,3348) (Tabela 7) ou não Bt (-0,0863) (Tabela 8). Por outro lado, se confirmou que na ausência de inseticida, independente da linhagem de *S. frugiperda* e da cultivar de algodão, o tipo de resposta funcional melhor representado para *P. nigrispinus* é o tipo III, isto é, valor do coeficiente linear positivo ($P > 0$) (Tabelas 5, 6, 7 e 8). Portanto, esses resultados evidenciam que o tipo de resposta funcional de *P. nigrispinus* foi afetado pelo neonicotinóide imidacloprid.

Tabela 5 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de *S. frugiperda* suscetível a lambda-cyhalothrin por fêmeas de *P. nigrispinus* em algodão Bt na ausência ou presença de imidacloprid

Tratamento/Coeficiente	Estimativa $\pm$ DP	χ^2	$P > \chi^2$
Imidacloprid			
Constante	0,7619 $\pm$ 0,5264	2,10	0,1478
Linear	- 0,0043 $\pm$ 0,3706	0,00	0,9906
Quadrático	0,1728 $\pm$ 0,0024	8,41	0,0037
Cúbico	- 0,0090 $\pm$ 0,0024	13,79	0,0002
Controle			
Constante	- 0,0488 $\pm$ 0,2144	0,05	0,8199
Linear	1,0344 $\pm$ 0,1510	46,94	0,00001
Quadrático	- 0,0075 $\pm$ 0,0243	0,10	0,7577
Cúbico	0,0001 $\pm$ 0,0010	0,01	0,0085

Tabela 6 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de *S. frugiperda* suscetível a lambda-cyhalothrin por fêmeas de *P. nigrispinus* em algodão não Bt na ausência ou presença de imidacloprid

Tratamento/Coefficiente	Estimativa±DP	χ^2	P > χ^2
Imidacloprid			
Constante	1,1429 ± 0,8629	1,75	0,1853
Linear	- 0,4402 ± 0,6075	0,52	0,4687
Quadrático	0,2503 ± 0,0977	6,57	0,0104
Cúbico	1,0381 ± 0,004	10,24	0,0014
Controle			
Constante	0,0081 ± 0,2544	0,01	0,9746
Linear	0,9732 ± 0,1791	29,52	0,0001
Quadrático	0,0074 ± 0,0288	0,07	0,7972
Cúbico	-0,0013 ± 0,0012	1,22	0,2689

Tabela 7 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin por fêmeas de *P. nigrispinus* em algodão Bt na ausência (controle) ou presença de imidacloprid (continua)

Tratamento/Coefficiente	Estimativa ± DP	χ^2	P > χ^2
Imidacloprid			
Constante	1,2000 ± 0,7278	2,72	0,0996
Linear	-0,3348 ± 0,5124	0,43	0,5135
Quadrático	0,2294 ± 0,0824	7,75	0,0054
Cúbico	-0,0114 ± 0,0034	11,56	0,0007
Controle			
Constante	0,2393 ± 0,4797	0,25	0,6179

Tabela 7 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin por fêmeas de *P. nigrispinus* em algodão Bt na ausência (controle) ou presença de imidacloprid. (conclusão)

Tratamento/Coeficiente	Estimativa $\pm$ DP	χ^2	P > χ^2
Linear	0,7412 $\pm$ 0,3378	4,82	0,0282
Quadrático	0,0300 $\pm$ 0,0543	0,30	0,5808
Cúbico	- 0,0012 $\pm$ 0,0022	0,27	0,6020

Tabela 8 - Resultados das análises de regressão logística polinomial da predação de uma linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin por fêmeas de *P. nigrispinus* em algodão não Bt na ausência ou presença de imidacloprid

Tratamento/Coeficiente	Estimativa $\pm$ DP	χ^2	P > χ^2
Imidacloprid			
Constante	0,9724 $\pm$ 0,7524	1,67	0,1962
Linear	-0,0863 $\pm$ 0,5297	0,03	0,8706
Quadrático	0,1667 $\pm$ 0,0852	3,83	0,0503
Cúbico	-0,0086 $\pm$ 0,0035	6,09	0,0136
Controle			
Constante	-0,1167 $\pm$ 0,3189	0,13	0,7145
Linear	1,1410 $\pm$ 0,2245	25,5283	0,0001
Quadrático	-0,0388 $\pm$ 0,0361	1,15	0,2828
Cúbico	0,0017 $\pm$ 0,0015	1,34	0,2462

As curvas de regressão geradas revelaram que a proporção de lagartas de *S. frugiperda* predadas por fêmeas de *P. nigrispinus* decresceu com o aumento da densidade de lagartas nos tratamentos que receberam aplicações de imidacloprid, caracterizando uma curva assintótica, típica de resposta funcional tipo II (Figura 3). Para os tratamentos utilizados foram registrados bons ajustes dos modelos, tanto para resposta funcional tipo II, na presença de imidacloprid

(linhagem de *S. frugiperda* suscetível em cultivar de algodão Bt ($R^2=0,7857$) ou não Bt ($R^2=0,8404$); linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin em cultivar de algodão Bt ($R^2=0,8665$) ou não Bt ($R^2=0,8824$) (Tabela 9)), quanto para tipo III na ausência de imidacloprid (linhagem de *S. frugiperda* suscetível em cultivar de algodão Bt ($R^2=0,9888$) ou não Bt ($R^2=0,9606$); linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin em cultivar de algodão Bt ($R^2=0,9665$) ou não Bt ($R^2=0,9824$)) (Tabela 9).

Comparando as curvas de resposta funcional de *P. nigrispinus*, tendo como presa lagartas de *S. frugiperda*, constatou-se que as fêmeas desse predador responderam mais intensamente a baixas densidades de lagartas de *S. frugiperda*. Entretanto, ocorreu um declínio na proporção de lagartas de *S. frugiperda* predadas pelas fêmeas de *P. nigrispinus* nas densidades mais altas, a qual resultou em um decréscimo da curva da resposta funcional do predador, especialmente quando as presas foram lagartas de *S. frugiperda* expostas a imidacloprid.

O tempo de manipulação (T_h) não diferiu entre os tratamentos utilizados (imidacloprid e controle), pois houve sobreposição dos intervalos de confiança (IC 95%) entre os tratamentos que receberam ou não aplicação de imidacloprid, independente da cultivar de algodão (Bt ou não Bt) ou da linhagem (suscetível ou resistente a lambda-cyhalothrin) (Tabela 9).

A taxa de ataque de fêmeas de *P. nigrispinus* na ausência do inseticida imidacloprid (grupo controle), aumentou linearmente ($a=bN$) em função da densidade de lagartas, independente da cultivar de algodão (Bt ou não Bt) e da linhagem de *S. frugiperda* (suscetível ou resistente a lambda-cyhalothrin), o que reforça o tipo III de resposta funcional (Tabela 9), enquanto que na presença de imidacloprid, a taxa de ataque de fêmeas de *P. nigrispinus* decresceu em função do aumento da densidade de lagartas de *S. frugiperda* expostas ao predador.

Os resultados dessa pesquisa evidenciaram que a interação linhagem *versus* cultivar *versus* inseticida *versus* densidade não foi significativa ($F_{4,43}=0,72$; $P=0,5804$), por outro lado as interações linhagem *versus* cultivar *versus* densidade ($F_{4,43}=4,83$; $P=0,0011$) e inseticida *versus* densidade ($F_{4,43}=164,26$; $P<0,0001$) foram significativas (Tabela 10). Portanto, os resultados de predação de lagartas em função das cultivares de algodão, linhagem e densidade da presa (Tabela 11), ou em função da densidade e aplicação do inseticida (Figura 4) foram analisados separadamente.

Tabela 9 - Parâmetros (Média±EP), intervalos de confiança estimados pela equação de Holling, indicando resposta funcional tipos II e III de *P. nigrispinus* alimentado de linhagens de *S. frugiperda* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) na ausência e presença de imidacloprid

Tratamento	Tipo	Parâmetro			R ²
		a h ⁻¹	b	T _h (h) ^I	
Linhagem suscetível em algodão Bt					
Imidacloprid	II	1,15 ± 0,17 (0,79 – 1,52)	-	1,53 ± 0,24 (0,95 – 2,12)	0,7857
Controle (ausência de inseticida)	III	-	0,24 ± 0,02 (0,19 – 0,28)	1,23 ± 0,06 (1,10 – 1,36)	0,9888
Linhagem suscetível em algodão não Bt					
Imidacloprid	II	1,23 ± 0,34 (0,51 - 1,96)	-	2,28 ± 0,04 (1,10 – 3,45)	0,8404
Controle (ausência de inseticida)	III	-	0,31 ± 0,02 (0,25 - 0,37)	1,72 ± 0,04 (1,59 - 1,85)	0,9606
Linhagem resistente a piretróide em algodão Bt					
Imidacloprid	II	1,19 ± 0,22 (0,72 – 1,66)	-	1,61 ± 0,03 (0,87 – 2,34)	0,8665
Controle (ausência de inseticida)	III		0,21 ± 0,02 (0,16 - 0,25)	1,17 ± 0,07 (1,02 – 1,32)	0,9665
Linhagem resistente a piretróide em algodão não Bt					
Imidacloprid	II	1,12 ± 0,21 (0,68 – 1,75)	-	1,81 ± 0,37 (1,02 – 2,59)	0,8824
Controle (ausência de inseticida)	III		0,21 ± 0,01 (0,17 - 0,26)	1,18 ± 0,08 (1,03 - 1,32)	0,9824

Comparação entre os tratamentos: imidacloprid e controle, dentro do mesmo grupo (linhagem de *S. frugiperda*/cultivar de algodão).^I Valores não diferem entre si pela sobreposição dos intervalos de confiança (IC 95%).

Tabela 10 - Resumo da análise de variância da predação de lagartas de linhagens de *S. frugiperda* por *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt) na ausência e presença de imidacloprid

FV	GL	F	P > F
Linhagem	1	2,45	0,0494
Cultivar	1	10,30	0,0016
Inseticida	1	327,72	0,0001
Densidade	4	1292,26	0,0001
Bloco	4	2,02	0,0936
Linhagem*Cultivar	1	5,52	0,0201
Linhagem*Inseticida	1	0,20	0,6572
Linhagem*Densidade	4	4,45	0,0020
Cultivar*Inseticida	1	0,48	0,4875
Cultivar*Densidade	4	6,16	0,0001
Inseticida*Densidade	4	164,26	0,0001
Linhagem*Cultivar*Inseticida	1	1,51	0,2215
Linhagem*Cultivar*Densidade	4	4,83	0,0011
Cultivar*Inseticida*Densidade	4	0,20	0,9355
Linhagem*Inseticida*Densidade	4	1,32	0,2639
Linhagem*Cultivar*Inseticida*Densidade	4	0,72	0,5804

A predação de lagartas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* diferiu entre as cultivares e linhagens de *S. frugiperda* na densidade de 16 lagartas/folha, sendo significativamente inferior na linhagem suscetível a lambda-cyhalothrin quando alimentadas com algodão não Bt (9,08 lagartas) em relação aos demais tratamentos (Tabela 11).

O inseticida imidacloprid afetou a predação de lagartas de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* na densidade de 16 lagartas/predador, pois se constatou nessa densidade que a predação foi significativamente inferior em insetos que foram expostos ao inseticida (7,25 lagartas) em relação ao grupo controle (14,36 lagartas). Além do mais, se registrou que não houve diferença significativa da predação de *S. frugiperda* por *P. nigrispinus* entre as densidades de 8 (7,57 lagartas) e 16 lagartas (7,25 lagartas), quando na exposição do inseticida imidacloprid (Figura 4).

Figura 3 - Resposta funcional de fêmeas de *P. nigrispinus* a diferentes densidades de duas linhagens de *S. frugiperda*, em algodão Bt e não Bt, na ausência (---●---) e presença de imidacloprid (—○—). A= *S. frugiperda* suscetível a lambda-cyhalothrin em algodão Bt; B= *S. frugiperda* suscetível a lambda-cyhalothrin em algodão não Bt; C= *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin em algodão Bt; D= *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin em algodão não Bt

Tabela 11 - Predação (Média $\pm$ EP) de lagartas de linhagens de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* em duas cultivares de algodão (Bt e não Bt)¹

Densidade	Linhagem suscetível		Linhagem resistente	
	Algodão Bt	Algodão não Bt	Algodão Bt	Algodão não Bt
1	0,90 $\pm$ 0,31Aa	0,80 $\pm$ 0,42Aa	0,95 $\pm$ 0,15Aa	0,95 $\pm$ 0,09Aa
2	1,78 $\pm$ 0,41Aa	1,87 $\pm$ 0,31Aa	1,77 $\pm$ 0,32Aa	1,82 $\pm$ 0,33Aa
4	3,40 $\pm$ 0,84Aa	3,07 $\pm$ 1,17Aa	3,10 $\pm$ 0,99Aa	3,27 $\pm$ 0,80Aa
8	7,50 $\pm$ 0,70Aa	7,40 $\pm$ 0,66Aa	7,45 $\pm$ 0,68Aa	7,00 $\pm$ 1,16Aa
16	11,52 $\pm$ 3,76Aa	9,08 $\pm$ 3,50Bb	11,42 $\pm$ 4,03Aa	11,20 $\pm$ 4,36Aa

¹Comparações dentro da mesma linha (densidade de lagartas), Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre cultivares de algodão Bt e não Bt, dentro da mesma linhagem de *S. frugiperda*), e minúscula (comparação entre linhagens de *S. frugiperda*, resistente ou suscetível a inseticidas, dentro da mesma cultivar de algodão), não diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls (P= 0,05).

Figura 4 - Número de lagartas predadas (Média $\pm$ EP) em diferentes densidades de *S. frugiperda* por fêmeas de *P. nigrispinus* na presença e ausência do inseticida imidacloprid. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (comparação entre as densidades), e minúscula (comparação entre o grupo controle e imidacloprid, dentro da mesma densidade), não diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls (P= 0,05)

5 DISCUSSÃO

5.1 Implicações do algodão Bt e da resistência de *Spodoptera frugiperda* a lambda-cyhalothrin nas respostas funcionais de *Podisus nigrispinus*

Os resultados desse trabalho revelaram que o comportamento de predação de *P. nigrispinus* foi melhor representada pelo tipo III de resposta funcional, ou seja por uma curva sigmóide. Portanto, o tipo de resposta funcional de *P. nigrispinus* não foi afetado pelo algodão Bt ou pelo custo adaptativo associado à resistência de *S. frugiperda* a lambda-cyhalothrin. A dependência da densidade de presas tem sido registrada em *P. nigrispinus* por outros pesquisadores, conforme verificado sob *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) por Zanuncio Júnior (2007) e *A. argillacea* por Oliveira et al. (2001) e Pereira et al. (2010). Respostas de predadores quando em função da densidade da presa, representadas por uma curva sigmóide (tipo III) são de fundamental importância para programas em que são utilizados agentes de controle biológico, pois com este comportamento, o predador será capaz de regular a população da presa, mesmo sob condições de altas densidades (MURDOCH; OATEN 1975).

A aquisição de um maior número de presas pelo predador *P. nigrispinus*, especialmente em situações de altas densidades de presas, implica em uma maior taxa de ataque, que representa a eficiência de procura da presa, por esse predador. A taxa de ataque aumentou linearmente em todas as condições estudadas, no entanto se observou um maior tempo de manuseio (T_h) em fêmeas que receberam lagartas previamente alimentadas com algodão não transgênico (Tabela 2). O custo adaptativo de insetos associado à resistência a inseticidas (ROUSH; McKENZIE, 1987), assim como a cultivar de algodão Bt (RAMALHO et al., 2011) podem afetar a qualidade nutricional dessas lagartas; portanto acredita-se que lagartas suscetíveis a inseticidas e alimentadas de algodão não Bt são de qualidade nutricional superior em relação às demais condições, ou seja, lagartas de *S. frugiperda* resistentes a lambda-cyhalothrin, e alimentadas de algodão Bt. Portanto, em presas de superior qualidade nutricional, fêmeas de *P. nigrispinus* necessitam de um maior tempo de manuseio (T_h), ou seja, de investir em um maior período de tempo na captura, ataque e ingestão da presa.

Nas condições de teste com lagartas de *S. frugiperda* resistentes a lambda-cyhalothrin ou quando lagartas de *S. frugiperda* foram alimentadas de algodão Bt, se observou uma aquisição de um maior número de presas pelo predador para atendimento do seu nível de saciação, e consequentemente, incremento da eficiência desse agente de controle biológico (Figura 2). De fato, na densidade de 16 lagartas de *S. frugiperda*, o consumo de lagartas de *S. frugiperda* por

P. nigrispinus foi significativamente inferior em lagartas suscetíveis a lambda-cyhalothrin que foram alimentadas de algodão não Bt em relação aos demais tratamentos (Tabela 3). A explicação para esse fato é que plantas transgênicas, como milho e/ou algodão proporcionam redução na qualidade nutricional de presas, especialmente de lagartas desfolhadoras (ROMEIS et al., 2008). De acordo com Ramalho et al. (2011), a cultivar Bollgard[®], apesar de não conferir alta mortalidade para *S. frugiperda*, essa cultivar proporciona um efeito sub-letal como redução do peso larval, além de afetar sua nutrição qualitativa, como produção de fezes, taxa de alimento metabolizado e alimento assimilado.

Variações na qualidade nutricional da planta são importantes na eficiência de captura de presas e desempenho de heterópteros predadores (KIMAN; YEARGAN, 1985; COLL, 1997; De CLERCQ; MOHAGHEGH; TIRRY, 2000). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, constatou-se que o tipo de resposta funcional não foi afetado pela cultivar de algodão (Bt ou não Bt); entretanto em condições de maiores densidades, no caso 16 lagartas/fêmea de *P. nigrispinus*, a taxa de consumo é afetada pelo algodão Bt.

O custo adaptativo associado à resistência de insetos a táticas de controle e seu potencial impacto no terceiro nível trófico tem sido pouco explorado (AGNEW et al., 2004). A baixa qualidade nutricional de lagartas favoreceu a aquisição pelo predador *P. nigrispinus* de um maior número de presas resistentes à inseticidas em relação aquelas suscetíveis. Estudos conduzidos por Thomazoni et al. (2010) têm evidenciado o custo adaptativo dessa mesma linhagem de *S. frugiperda* resistente a lambda-cyhalothrin, inclusive com diferenças nas atividades fisiológicas entre as linhagens suscetível e resistente após o parasitismo do agente *Campoletis* sp (Hymenoptera: Braconidae), afetando a cinética da atividade das fenoloxidasas e a produção de óxido nítrico.

Foster et al. (1999) identificaram custo adaptativo de linhagens de *M. persicae* associado aos genes “knockdown” (kdr) e esterase, com baixa produção de feromônio de alarme. Essa baixa produção do feromônio (E)-b-farnesene tem implicações diretas na atratividade de fêmeas virgens do parasitóide *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) (FOSTER et al., 2005). Utilizando clones de *M. persicae* com presença de carboxylesterase e o kdr, genes responsáveis por conferir resistência a inseticidas, Foster et al. (2010) também constataram uma redução na resposta a produção de feromônio de alarme e consequentemente vulnerabilidade ao ataque do parasitóide *D. rapae*, quando comparado a linhagem suscetível. Em linhagens de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), Berticat et al. (2004) verificaram custo

adaptativo associado a presença dos genes ester e ou ace-1, que conferem resistência a organofosforado, sendo que lagartas e adultos da linhagem resistente de *C. pipiens* foram mais vulneráveis a predação por *Plea minutissima* Leach (Hemiptera: Pleidae).

Fatores influenciando a evolução da resistência incluem a herança da resistência, frequência inicial de alelos da resistência, características de história de vida, comportamento, interações tritróficas, práticas de manejo de pragas, dinâmica populacional e custo adaptativo (GASSMANN; CARRIÉRE; TABASHNIK, 2009). Tendo em vista que o custo adaptativo ocorre em condições de ausência de pressão de seleção (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977), e que o algodão Bt hipoteticamente é favorável a redução de aplicação de inseticidas, além do mais, nessas condições é observada a manutenção de inimigos naturais, o presente estudo providencia resultados promissores para elaboração de programas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a inseticidas piretróides. A baixa qualidade nutricional encontrada em lagartas de linhagem resistente de *S. frugiperda* e submetidas a folhas de algodão Bt potencializa a eficiência do predador *P. nigrispinus*. Portanto a integração do algodão Bt com o controle biológico através do Asopinae *P. nigrispinus* é de capital importância para obtenção de sucesso em programas de manejo da resistência de *S. frugiperda* a piretróide.

5.2 Impacto do inseticida neonicotinóide imidacloprid nas respostas funcionais de *Podisus nigrispinus*

O tipo de resposta funcional de *P. nigrispinus* foi afetado pelo neonicotinóide imidacloprid, comprometendo a capacidade de predação dos indivíduos. A resposta funcional tipo II, é a mais comum em insetos predadores, inclusive já detectada em *P. nigrispinus* por outros pesquisadores (De CLERCQ et al., 1998; MOHAGHEGH et al., 2001), porém as condições ecológicas são determinantes para caracterização da resposta funcional desse predador (ZANUNCIO et al., 2008; PEREIRA et al., 2010).

Os resultados desse trabalho revelaram que a capacidade predatória de fêmeas de *P. nigrispinus* foi significativamente inferior em relação a fêmeas do grupo controle, especialmente em condições de maiores densidades (16 lagartas/fêmea), o que caracterizou essa resposta assintótica naqueles indivíduos que receberam contaminação de imidacloprid (via contato residual + ingestão de lagartas contaminadas), ou seja, a predação aumentou proporcionalmente com o incremento na densidade da presa, independente da cultivar ou da linhagem de *S. frugiperda*, até atingir um platô, após esse pico decresceu desaceleradamente. Portanto, o inseticida imidacloprid afetou o comportamento de predação de *P. nigrispinus*. De

acordo com Evangelista Jr.; Torres; Silva Torres (2002), pentatomídeos predadores são normalmente muito ativos na procura de suas presas e podem se contaminar por inseticidas pelo resíduo seco dos produtos sobre a planta pelos tarsos, na higiene corporal através do uso dos tarsos sobre as demais partes do corpo, e pela alimentação de presas ou ainda de folhas contaminadas. Além do mais, o fato de *P. nigrispinus* exercer zoofitofagia (MALAQUIAS et al., 2010), pode ter potencializado a intoxicação do inseticida via floema. Embora o efeito residual de imidacloprid até mesmo em campo tem sido determinante para efeitos letais em *P. nigrispinus* (TORRES; RUBERSON, 2004).

Inseticidas neonicotinóides, são agonistas de acetilcolina, ligando-se aos seus receptores e exercendo o mesmo papel desse neurotransmissor, ou seja, transmitindo o impulso nervoso, mas não sendo degradados pela acetilcolinesterase. Então, o efeito letal dessa molécula é imediato. Em percevejos predadores o impacto negativo de inseticidas neonicotinóides tem sido registrado por diversos pesquisadores (De COCK et al. 1996, BOYD; BOETHEL 1998; TORRES et al., 2002a, 2002b; TORRES; RUBERSON, 2004). Além do efeito letal, inseticidas neonicotinóides podem oferecer efeitos subletais para insetos predadores, como redução da taxa de consumo, conforme registrado em *P. nigrispinus* por Torres et al. (2002), quando esses insetos foram expostos via ao neonicotinóide thiamethoxan. Os estudos conduzidos por esses pesquisadores revelaram ainda um efeito residual desse inseticida em algodoeiro de até 27 dias após aplicação para ninfas de 2º ínstar de *P. nigrispinus*, sendo a alimentação ocasional desses predadores sobre as plantas uma das maiores vias de exposição. Poletti; Maia; Omoto (2007) demonstraram que o neonicotinóide imidacloprid alterou algumas variáveis das respostas funcionais dos predadores *Neoseiulus californicus* McGregor e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae).

A taxa de ataque e o tempo de manipulação são utilizados para delinear a magnitude de respostas funcionais de inimigos naturais as suas respectivas presas ou hospedeiros. O tempo de manuseio é todo aquele período de tempo investido na identificação, captura, ataque e ingestão da presa (HASSELL; LAWTON; BEDDINGTON, 1977). Baseado nos intervalos de confiança (IC 95%), o tempo de manipulação (T_h) não diferiu entre os insetos que receberam ou não aplicação de imidacloprid, independente da cultivar de algodão (Bt ou não Bt) ou da linhagem de *S. frugiperda* (suscetível ou resistente a lambda-cyhalothrin). Entretanto, os resultados demonstraram que, independente da linhagem de *S. frugiperda* ou da cultivar de algodão, *P. nigrispinus* não responde ao aumento da densidade de lagartas de *S. frugiperda*, quando exposto a esse inseticida, pois o comportamento de predação foi alterado.

Considerando-se que a quantidade de presas adquiridas pelo predador *P. nigrispinus*, especialmente em situações de altas densidades de presas, reflete diretamente na sua taxa de ataque (a), representando assim a sua eficiência de controle da presa, por esse predador (PEREIRA et al., 2010), a adoção de imidacloprid em campos de algodão Bt ou não Bt, para o controle de insetos/ácaros sugadores compromete a eficiência do consumo de lagartas de *S. frugiperda* resistentes ou suscetíveis a lambda-cyhalothrin pelo predador *P. nigrispinus*.

A variação de resposta de insetos a inseticidas depende diretamente da tolerância da espécie, variabilidade genética intraespecífica, concentração de ingrediente ativo, vias e tempo de exposição, e especialmente do grupo químico do inseticida. Em um estudo conduzido por Dastjerdi et al. (2009), foi revelado que os inseticidas spinosad e profenofos induziram a diferentes respostas ao ectoparasitóide *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera.: Braconidae), embora o tipo de resposta funcional foi tipo II. Esses pesquisadores também constataram que o coeficiente de taxa de ataque não variou significativamente quando os insetos foram expostos aos inseticidas hexaflumuron e thiodicarb, portanto refletindo em menores efeitos a esse parasitóide. O presente trabalho evidenciou que independente da linhagem de *S. frugiperda* ou cultivar de algodão, a taxa de ataque de *P. nigrispinus* é afetada pela aplicação de imidacloprid. Dessa forma, os resultados deste estudo estão de acordo com os obtidos por Torres & Ruberson (2004), demonstrando impacto negativo desse inseticida para o predador *P. nigrispinus*. Estas informações são importantes para delineamento de manejo de pragas em algodoeiro. Portanto, aplicações de imidacloprid devem ser utilizadas na cultura do algodão de forma criteriosa.

6 CONCLUSÕES

O Algodão Bt que expressa Cry1Ac (Bollgard[®]) e a resistência de *S. frugiperda* a lambda-cyhalothrin não alteram o tipo de resposta funcional de *P. nigrispinus*; sendo que, independente da linhagem de *S. frugiperda* (suscetível ou resistente) ou da cultivar de algodão (algodão Bt ou não Bt), a taxa de ataque de *P. nigrispinus* aumenta linearmente com a densidade de lagartas de *S. frugiperda*.

Fêmeas de *P. nigrispinis* investem em um maior tempo de manuseio (T_h) em lagartas de *S. frugiperda* da linhagem suscetível a lambda-cyhalothrin e alimentadas de algodão não transgênico.

A resistência de *S. frugiperda* associada lambda-cyhalothrin assim como a cultivar de algodão Bt (Bollgard[®]) incrementam a taxa de consumo de fêmeas de *P. nigrispinus*, somente na maior densidade testada (16 lagartas/predador).

O comportamento de predação de lagartas de *S. frugiperda* por *P. nigrispinus* é afetado negativamente pelo neonicotinóide imidacloprid, pois a taxa de ataque decresce com o aumento da densidade de lagartas, embora o tempo de manipulação (T_h) não difere entre os tratamentos que recebem ou não imidacloprid.

REFERÊNCIAS

- AGNEW, P.; BERTICAT, C.; BEDHOMME, S.; SIDOBRE, C.; MICHALAKIS, Y. Parasitism increases and decreases the costs of insecticide resistance in mosquitoes. **Evolution**, Washington, v. 58, n. 3, p. 579–586, Mar. 2004.
- ANDOW, D.A. The risk of resistance evolution in insects to transgenic insecticidal crops. **Collection of Biosafety Reviews**, Trieste, v. 4, p. 142-199. 2008.
- ARMER, C.A.; BERRY, R.E.; KOGAN, M. Longevity of phytophagous heteropteran predators feeding on transgenic Bt-potato plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 95, n. 3, p. 329–333, June 2000.
- BARROS, E.M.; TORRES, J.B.; BUENO, A.F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 996-1001, nov./dez. 2010.
- BASTOS, C.S.; TORRES, J.B. **Controle biológico como opção no manejo de pragas do algodoeiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 29 p. (Circular Técnica, 72).
- BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K.C.; VALICENTE, F.H.; OMOTO, C. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. **Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais**. Visconde de Rio Branco: Suprema, 2011. cap. 9, p. 179-204.
- BERNARDI, O.; MALVESTITI, G. S.; DOURADO, P. M.; OLIVEIRA, W. S.; MARTINELLI, S. BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, Accepted Article, 2012. In press
- BERTICAT, C.; DURON, O.; HEYSE, D.; RAYMOND, M. Insecticide resistance genes confer a predation cost on mosquitoes, *Culex pipiens*. **Genetic Research**, Cambridge, v. 83, n. 3, p. 189–196, June 2004.
- BOIÇA Jr., A.L.; CAMPOS, A.P. Resistência de plantas a insetos. In: BUSOLI, A.C.; ANDRADE, D.J.; JANINI, J.C.; BARBOSA, C.L.; FRAGA, D.F.; SANTOS, L.C.; RAMOS, T.O.; PAES, V.S. **Tópicos em entomologia agrícola – III**. Jaboticabal: Multi Press, 2010. cap. 1, p. 11-22.
- BOYD, M.L.; BOETHEL, D.J. Residual toxicity of selected insecticides to heteropteran predaceous species (Heteroptera: Lygaeidae, Nabidae, Pentatomidae) on soybean. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 27, n. 1, p. 154-160, Feb. 1998.
- BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PENA, G.; NUÑEZ-VALDEZ, M.; SOBERON, M.; QUINTERO, R. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strains collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 12, p. 4965-4972, Dec. 1998.

BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M.; BANDEIRA, J.M.; RODRIGUES, T.R. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas ao milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 709-716, nov./dez. 2004.

CARNEIRO, A.A.; GUIMARÃES, C.T.; VALICENTE, F.H.; WAQUIL, J.M.; VASCONCELOS, M.J.V.; CARNEIRO, N.P.; MENDES, S.M. **Milho Bt**: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 22 p. (Circular Técnica).

COLL, M.; RIDGWAY, R.L. Functional and numerical responses of *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthracoridae) to its prey in different vegetable crops. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 88, n. 6, p. 732-738, Nov. 1995.

COLL, M., SMITH, L.A.; RIDGWAY, R.L. Effect of plants on the searching efficiency of a generalist predator: the importance of predator-prey spatial association. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 83, n. 1, p. 1-10, Apr. 1997.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. **Parecer nº 513/2005**: liberação comercial de algodão geneticamente modificado resistente a insetos evento 531 - Processo 01200.001471/2003-01. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12526.html>>. Acesso em: 01 maio 2011.

_____. **Parecer técnico nº 1757/2009**: liberação comercial de algodão geneticamente modificado, resistente a insetos e tolerante ao glufosinato de amônio, algodão widestrike, evento 281-24-236/3006-210-23 - Processo nº 01200.005322/2006-55. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12526.html>>. Acesso em: 01 maio 2011.

_____. **Parecer técnico nº 2795/2011**: liberação comercial de algodão geneticamente modificado T304-40 x GHB119, resistente a insetos e tolerante ao herbicida glufosinato de amônio, designado Algodão TwinLink - Processo nº 01200.002699/2010-39. Disponível em: <<http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/12526.html>>. Acesso em: 01 maio 2011.

CUI, J.; XIA, J. Effects of transgenic Bt cotton on the population dynamic of natural enemies. **Acta Gossypii Sinica**, Beijing, v. 11, p. 84-91, 1999.

DASTJERDI, H.R.; HEJAZI, M.J.; GANBALANI, G.N.; SABER, M. Effects of some insecticides on functional response of ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.: Braconidae). **Journal of Entomology**, New York, v. 6, n. 3, p. 161-166, 2009.

De CLERCQ, P.; MOHAGHEGH, J. TIRRY, L. Effect of host plant on the functional response of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, Dordrecht, n. 18, n. 1, p. 65-70, May 2000.

De CLERCQ, P.; MERLEVEDE, F.; MESTDAGH, I.; VANDENDURPEL, K.; MOHAGHEGH, J.; DEGHEELE, D. Predation on the tomato looper *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lep. Noctuidae) by *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 122, n. 1, p. 93-98, Jan. 1998.

De COCK, A.; De CLERCQ, P.; TIRRY, L.; DEGHEELE, D. Toxicity of diflubenzuron and imidacloprid to the predatory bug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 25, n. 2, p. 476-480, Apr. 1996.

De POLANIA, I.Z.; ARÉVALO MALDONADO, H.A.; MEJÍA CRUZ, R.; DIAZ SÁNCHEZ, J.L. *Spodoptera frugiperda*: respuesta de distintas poblaciones a la toxina Cry1Ab. **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 35, p. 34-41, 2009.

DHURUA, S.; GUJAR, G.T. Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India. **Pest Management Science**, Malden, v. 67, n. 8, p. 898-903, Aug. 2011.

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

DUTTON, A.; KLEIN, H.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. **Ecological Entomology**, London, v. 27, n. 4, p. 441-447, Aug. 2002.

EVANGELISTA Jr., W.S.; TORRES, J.B.; SILVA TORRES, C.S.A. Toxicidade de lufenuron para *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 319-326, abr./jun. 2002.

FAUST, R.M.; BULLA Jr., A.L. Bacterial on their toxins as insecticides. In: KURSTAKI, E. (Ed.). **Microbial and viral pesticides**. New York: Marcel Dekker, 1982. p. 75-206.

FAN, Y.; PETITT, F.L. Parameter estimation of the functional response. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 23, n. 4, p. 785-794, Aug. 1994.

FERNANDES, F.S.; RAMALHO, F.S.; NASCIMENTO JÚNIOR, J.L.; MALAQUIAS, J.B. NASCIMENTO, A.R.B.; SILVA, C.A.D.; ZANUNCIO, J.C. Within-plant distribution of cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), in Bt and non-Bt cotton fields. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 102, n. 1, p. 79-87, Feb. 2012.

FERNANDES, O.A. **Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* sp.** 2003. 162 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

FIUZA, L.M.; LEROUX, C.N.; GOZE, E.; FRUTOS, R.; CHARLES, J.F. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1 toxins to the midgut brush border membrane vesicles of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera:Pyralidea): evidence of shared binding sites. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 5, p. 1544-1549, May 1996.

FITT, G. P. Have Bt crops led to changes in insecticide use patterns and impacted IPM? In: ROMEIS, J.; SHELTON, A.M.; KENNEDY, G.G. (Ed.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM Programs**. Dordrecht: Springer, 2008. chap. 11, p. 303-328.

FOSTER, S.P.; DENHOLM, I.; THOMPSON, R.; POPPY, G.M.; POWELL, W. Reduced response of insecticide-resistant aphids and attraction of parasitoids to aphid alarm pheromone; a potential fitness trade-off. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 95, n. 1, p. 37-46, Feb. 2005.

FOSTER, S.P.; DENHOLM, I.; POPPY, G.M.; THOMPSON, R.; POWELL, W. Fitness trade-off in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) between insecticide resistance and vulnerability to parasitoid attack at several spatial scales. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 101, n. 6, p. 659-666, Feb. 2011.

FOSTER, S.P.; WOODCOCK, C.M.; WILLIAMSON, M.S.; DEVONSHIRE, A.L.; DENHOLM, I.; THOMPSON, R. Reduced alarm response by peach-potato aphids, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 89, n. 2, p. 133-138, Feb. 1999.

FREUND, R.J.; LITTELL, R.C. **SAS system for regression**. Cary, SAS Institute, 1986. 846 p.

GASSMANN, A.J.; CARRIÉRE, Y.; TABASHNIK, B.E. Fitness costs of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 54, p. 147-163, 2009.

GASSMANN, A.; PETZOLD-MAXWELL, J.L.; KEWESHAN, R.S.; DUNBAR, M.W. Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, n. 7, July 2011. Acesso em: <<http://www.plosone.org/article/citationList.action?articleURI=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0022629>>. Acesso em: 17 jan. 2011.

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

GEORGHIOU, G.P.; TAYLOR, C.E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 70, n. 3, p. 319-323. June 1977.

_____. Factors influencing the evolution of resistance. In: _____. (Ed.). **Pesticide resistance: strategies and tactics for management**. Washington: National Academic Press, 1986. chap. 3, p. 157-169.

GILL, S.S.; COWLES, E.A.; PIETRANTONIO, P.V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 615-36. 1992.

GOULD, F. The evolutionary potential of crop pests. **American Scientist**, New Haven, v. 79, p. 496-507, Dec. 1991.

_____. Potential and problems with high-dose strategies for pesticidal engineered crops. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 4, n. 4, p. 451–461, 1994.

GREENPLATE, J. Quantification of *Bacillus thuringiensis* insect control protein Cry1Ac over time in Bollgard cotton fruit and terminals. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, n. 6, p. 1377-1387, Dec. 1999.

GREENPLATE, J.T.; MULLINS, J.W.; PENN, S.R.; DAHAM, A.; REICH, B.J.; OSBORN, J.A.; RAHN, P.R.; RUSCHKE, L.; SHAPPLEY, Z.W. Partial characterization of cotton plants expressing two toxin proteins from *Bacillus thuringiensis*: relative contribution, toxin interaction, and resistance management. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 127, p. 340–347, 2003.

HAGERTY, A.M.; KILPATRICK, A.L.; TUMIPSEED, S.G.; SULLIVAN, M.L. Predaceous arthropods and lepidopteran pests on conventional, Bollgard, and Bollgard II cotton under untreated and disrupted conditions. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 34, n. 1, p. 105–114, Feb. 2005.

HASSELL, M.P.; LAWTON, J.H.; BEDDINGTON, J.R. Sigmoid functional responses by invertebrate predators and parasitoids. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 249-262, Feb. 1977.

HEAD, G.; MOAR, M.; EUBANKS, M.; FREEMAN, B.; RUBERSON, J.; HAGERTY, A.; TURNIPSEED, S. A multi-year, large-scale comparison of arthropod populations on commercially managed Bt and non-Bt cotton fields. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 34, n. 5, p. 1257–1266, Oct. 2005.

HOLLING, C.S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 91, n.7, p. 385-398, July 1959.

JESUS, F.G. **Resistência de cultivares de algodoeiro sobre *Spodoptera frugiperda* e *Alabama argillacea* (Lepidoptera: Noctuidae) e efeito na biologia e comportamento de *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)**. 2009. 111p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

KENNEDY, G.G. Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A.M.; KENNEDY, G.G. (Ed.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Dordrecht: Springer, 2008. chap. 1, p. 1- 26.

KIMAN, Z.B.; YEARGAN, K.V. Development and reproduction of the predator *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) reared on diets of selected plant material and arthropod prey. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 78, n.4, p. 464–467, July 1985.

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

- LIU, W.; WAN, F.; GUO, J. Structure and seasonal dynamics of arthropods in transgenic Bt cotton field. **Acta Entomologica Sinica**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 729–35, 2002.
- LIU, W.; WAN, F.; ZHANG, F.; MENG, Z.; WANG, F. Evaluation on role of predators in *Helicoverpa armigera* control. **Chinese Journal of Biological Control**, Beijing, v. 16, n. 3, p. 97-101, 2000.
- MACHADO, V.; WUNDER, M.; BALDISSERA, V.D.; OLIVEIRA, J.V.; FIÚZA, L.M.; NAGOSHI, R.N. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae): molecular characterization of host strains in southern Brazil. **Annals of Entomology of Society of America**, Lanham, v. 101, n. 3, p. 619-629, May 2008.
- MALAQUIAS, J.B.; RAMALHO, F.S.; FERNANDES, F.S.; SOUZA, J.V.S.; AZEREDO, T.L. Effects of photoperiod on the development and growth of *Podisus nigrispinus*, a predator of cotton leafworm. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 37, p. 241-248, 2009.
- MALAQUIAS, J.B.; RAMALHO, F.S.; SOUZA, J.V.S.; RODRIGUES, K.C.V.; WANDERLEY, P.A. The influence of fennel feeding on development, survival, and reproduction in *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 34, n. 3, p. 235-244, June 2010.
- MALAQUIAS, J.B.; RAMALHO, F.S.; FERNANDES, F.S.; NASCIMENTO JÚNIOR, J.L.; CORREIA, E.T.; ZANUNCIO, J.C. Effects of Photoperiod on Reproduction and Longevity of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 103, n. 4, p. 603-610, 2010.
- MARÇON, P.C.R.G.; YOUNG, L.G.; STEFFEY K.L.; SIEGFRIED, B.D. Baseline susceptibility of European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, n. 2, p. 279–285, Apr. 1999.
- MARTINELLI, S.; CLARK, P.L.; ZUCCHI, M.I.; SILVA, M.C.; FOSTER, J.E.; OMOTO, C. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. **Bulletim of Entomology Research**, London, v. 97, n. 3, p. 225-231, 2007.
- MARTINELLI, S.; OMOTO, C. Resistência de lepidóteros-praga a inseticidas na cultura. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 1167-1182, set./dez. 2006.
- MARVIER, M.; MCCREEDY, C.; REGETZ, J.; KAREIVA, P. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. **Science**, Washington, v. 316, n. 5830, p. 1475–1477, May 2007.
- MEDEIROS, R.S.; RAMALHO, F.S.; SERRAO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 141-148, 2004.
- MEN, X.; GE, F.; LIU, C.; YARDIM, E.N. Diversity of arthropod communities in transgenic Bt cotton and nontransgenic cotton agroecosystems. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 32, n. 2, p. 270-275, Apr. 2003.

MOHAGHEGH, J.; De CLERCQ, P.; TIRRY, L. Functional response of the predators *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep., Noctuidae): effect of temperature. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 125, n. 3, p. 131-134. Apr. 2001.

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

MURDOCH, W.W.; OATEN, A. Predation and population stability. **Advances in Ecological Research**, Cidade, v. 9, p. 1-131, 1975.

NARANJO, S.E. Long-term assessment of the effects of transgenic *Bt*-cotton on the abundance of nontarget arthropod natural enemies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 34, n. 5, p. 1193-1210, Oct. 2005.

NARANJO, S.E.; RUBERSON, J.R.; SHARMA, H.C.; WILSON, L.; WU, K. The present and future role of insect-resistant genetically modified cotton in IPM. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A.M.; KENNEDY, G.G. **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Dordrecht: Springer, 2008. v. 1, chap. 6, p. 159-195.

NUNES, D.H. **Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo**. 2010. 111 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

OLIVEIRA, J.E.M.; TORRES, J.B.; CARRANO-MOREIRA, A.F.; ZANUNCIO, J.C. Efeito da densidade de presas e do acasalamento na taxa de predação de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em condições de laboratório e campo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 647-654, dez. 2001.

O'NEIL, R.J. Functional response of arthropod predators and its role in the biological control of insect pests in agricultural systems. In: ALAN, R.L. (Ed.). **New direction in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases**. West Lafayette: Purdue University, 1990. p. 83-86.

ONSTAD, D.W. Major issues in insect resistance management. In: ONSTAD, D.W. (Ed.). **Insect resistance management: biology, economics and prediction**. Burlington: Academic, 2008. chap. 1, p. 1-16.

PALLINI, A.; SILVIE, P.; MONNERAT, R.G.; RAMALHO, F.S.; SONGA, J.M.; BIRCH, A.N.E. Non-target and biodiversity impacts on parasitoids. In: HILBECK, A.; ANDOW, D.A.; FONTES, E.M.G. (Ed.). **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI, 2006. v. 2, p. 200-224.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 6. ed. Piracicaba: FEALQ, 2001. 134 p.

PEREIRA, A.I.A.; RAMALHO, F.S.; RODRIGUES, C.K.V.; MALAQUIAS, J.B.; SOUZA, J.V.S.; ZANUNCIO, J.C. Food extraction by the males of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) from cotton leafworm larvae. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Londrina, v. 53, n. 5, p. 1027-1035, 2010.

PESHIN, R.; KALRA, R.; DHAWAN, A.K.; KUMAR, T. Evaluation of insecticide resistance management based integrated pest management programme. **Ai & Society**, London, v. 21, n. 3, p. 357–381, Apr. 2007.

PILCHER, C.D.; OBRYCHI, J.J.; RICE, M.E.; LEWIS, L.C. Preimaginal development, survival and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 26, n. 2, p. 446–454, Apr. 1997.

POLANCZYK, R.A. *Bacillus thuringiensis* no manejo integrado de pragas. In: BUSOLI, A.C.; ANDRADE, D.J.; JANINI, J.C.; BARBOSA, C.L.; FRAGA, D.F.; SANTOS, L.C.; RAMOS, T.O.; PAES, V.S. **Tópicos em entomologia agrícola – III**. Jaboticabal: Multipress, 2010. cap. 2, p. 23-42.

POLETTI, M.; MAIA, A.H.N.; OMOTO, C. Toxicity of neonicotinoid insecticides to *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on functional response to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Biological Control**, Dordrecht, v. 40, n. 1. p. 30-36, Jan. 2007.

PONSARD, S., GUTIERREZ, A.P.; MILLS, N.J. Effect of Bt-toxin (Cry1Ac) in transgenic cotton on adult longevity of four heteropterian predators. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 31, n. 6, p. 1197–1205, Dec. 2002.

RAMALHO, F.S. Cotton pest management. Part 4. A Brazilian perspective. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, p. 563-578, 1994.

RAMALHO, F.S.; AZEREDO, T.L.; NASCIMENTO, A.R.B.; FERNANDES, F.S.; NASCIMENTO JÚNIOR, J.L.; MALAQUIAS, J.B.; SILVA, C.A.D.; ZANUNCIO, J.C. Feeding of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, on Bt transgenic cotton and its isolate. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 139, n. 3, p. 207–214, June 2011.

ROMEIS, J.; DRIESCHE, R.G. van.; BARRAT, B. I. P.; BIGLER, F. Insect resistant transgenic crops and biological control. In: ROMEIS, J.; SHELTON, A.M.; KENNEDY, G.G. **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Dordrecht: Springer, 2008. chap. 4, p. 87–118.

ROUSH, R.T.; McKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v. 32, p. 361-380, 1987.

SALAMA, H.S.; ZAKI, F.N. Impact of *Bacillus thuringiensis* Berl. on the predator complex of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) in cotton fields. **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, Hamburg, v. 97, v. 5, n. 5, p. 485-490, Dec. 1984.

SANTOS, K.B.; NEVES, P.; MENEGUIMB, A.M.; SANTOS, R.B.; SANTOS, W.J.; BOAS, G.V.; DUNAS, V.D.; MARTINS, E.; PRAÇA, L.B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, Dordrecht, v. 50, n. 2, p. 157–163, Aug. 2009.

SARAN, P.; SANTOS, W. **Manual de pragas do algodoeiro**. São Paulo: FMC, 2007. 278 p.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Cary, 2006.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; RIE, J.V.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 62, n. 3, p. 775-806, Sept. 1998.

SERVIÇO INTERNACIONAL PARA A AQUISIÇÃO DE APLICAÇÕES EM AGROBIOTECNOLOGIA **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011**. Disponível em: <<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/xx/executivesummary/default.asp>>. Acesso em: 01 fev. 2012.

SIVASUPRAMANIAM, S.; MOAR, W.J.; RUSCHKE, L.G.; OSBORN, J.A.; JIANG, C.; SEBAUGH, J.L.; BROWN, G.R.; SHAPPLEY, Z.W.; OPPENHUIZEN, M.E.; MULLINS, J.W.; GREENPLATE, J.T. Toxicity and Characterization of Cotton Expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 Proteins for Control of Lepidopteran Pests. **Journal of Economic of Entomology**, Lanham, v. 101, n. 2, p. 546-554, June 2008.

SPARKS, A.N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 62, n. 2, p. 82-87, June 1979.

STEWART, S.D.; ADAMCZYK, J.J.J R.; KNIGHTE, K.S.; DAVI, F.M. Impact of Bt cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of Noctuid (Lepidoptera) larvae. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 94, n. 3, p. 752–760, June 2001.

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

SUJII, E.R.; TOGNI, P.H.B.; NAKASU, E.Y.T.; PIRES, C.S.S.; PAULA, D.P.; FONTES, E.M.G. Impacto do algodoeiro Bt na dinâmica populacional do pulgão-do-algodoeiro em casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 1251-1256, 2008.

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

THOMAZONI, D.; DEGRANDE, P.E.; SILVIE, P.J.; FACCENDA, O. Impact of Bollgard genetically modified cotton on the biodiversity of arthropods under practical field conditions in Brazil. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 37, p. 6167–6176, Sept. 2011.

THOMAZONI, D.; ROSSI, G.R.; PAVAN, D.C.; VOLKOFF, A.N.; CÔNSOLI, F.L.; OMOTO, C. O custo adaptativo da resistência ao piretróide lambda-cyhalothrin em *Spodoptera frugiperda* altera sua resposta imunológica aos fatores de virulência de *Campoplex* sp.? In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2010, Natal **Resumos...** Londrina: Sociedade Entomológica do Brasil, 2010. Acesso em: <<http://www.seb.org.br/eventos/CBE/XXIIICBE/index2.asp?busca=&pagina=19>>. Data de acesso: 01 fev. 2012.

TORRES, J.B.; RUBERSON, J.R. Toxicity of thiamethoxam and imidacloprid to *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs associated to aphid and whitefly control in cotton. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 99-106, jan./fev. 2004.

_____. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. **Transgenic Research**, Stanford, v. 17, n. 3, p. 345-354, June 2008.

TORRES, J.B.; RUBERSON, J.R.; ADANG, M.J. Expression of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein in cotton plants, acquisition by pests and predators: a tritrophic analysis. **Agricultural and Forest Entomology**, Midlothian, v. 8, n. 3, p. 191-202, Aug. 2006.

TORRES, J.B.; SILVA-TORRES, C.S.A.; OLIVEIRA, M.R.; FERREIRA, J. Compatibilidade de inseticidas e acaricidas com o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em algodoeiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 311-317, abr./jun. 2002.

VALICENTE, F.H.; BARRETO, M.R. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil: geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 639-644, out./dez. 2003.

WAN, F.H.; LIU, W.X.; GUO, J.Y. Comparison analyses of the functional groups of natural enemy in transgenic bt-cotton field and non-transgenic cotton fields with IPM and chemical control. **Acta Ecologica Sinica**, Beijing, v. 22, p. 935-942, 2002.

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

WAQUIL, J.M.; VILELLA, F.M.F.; SIEGFRIED, B.D.; FOSTER, J.E. Atividade Biológica das Toxinas do Bt, Cry 1A(b) e CryY 1F em *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, p. 153-163, 2004.

WHITELEY, H.R.; SCHNEPF, H.E. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 40, p. 549-576, 1986.

WU, K.; GUO, Y. Changes in susceptibility to conventional insecticides of a Cry1Ac-selected population of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, Malden, v. 60, n. 7, p. 680–684, July 2004.

WU, K.; MU, W.; LIANG, G.; GUO, Y. Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. **Pest Management Science**, Malden, v. 61, n.5, p. 497-498, May 2005.

YAN, W. D.; SHI, W. M.; LI, B. H.; ZHANG, M. Overexpression of a foreign Bt gene in cotton affects the low-molecular-weight components in root exudates. **Pedosphere**, Nanjing, v. 17, n. 3, p. 324-330, 2007.

YU, S.J. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Orlando, v. 39, n. 1, p. 84-91, Jan. 1991.

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

ZANGERL, A.R.; MCKENNA, D.; WRAIHT, C.L.; CARROLL, M.; FICARELLO, P.; WARNER, R.; BERENBAUM, M.R. Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 98, n. 21, p. 11908–11912, 2001.

ZANUNCIO, J.C.; SILVA, C.A.D.; RODRIGUES, E. ; PEREIRA, F.F.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Londrina, v. 51, p. 125-129, 2008.

ZANUNCIO JÚNIOR, J.S. **Capacidade predatória de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) sobre *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2007. 77 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

ZHANG, G.F.; WAN, F.H.; LIU, W.X.; GUO, J.Y. Early instar response to plant-delivered Bt toxin in a herbivore (*Spodoptera litura*) and a predator (*Propylea japonica*). **Crop Protection**, New York, v. 25, n. 6, p. 527-533, June 2006a.

ZHANG, G.F.; WAN, F.H.; LOVEI, G.L.; LIU, W.X.; GUO, J.Y. Transmission of Bt toxin to the predator *Propylea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) through its aphid prey feeding on transgenic Bt cotton. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 35, n. 1, p. 143-150, Feb. 2006b.

ZHANG, G.F.; WAN, F.H.; MURPHY, S.T.; GUO, J.Y.; LIU, W.X. Reproductive biology of two nontarget insect species, *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae), on Bt and non-Bt cotton cultivars. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 37, n. 4, p. 1035–1042, Aug. 2008.

ZWAHLEN, C.; NENTWIG, W.; BIGLER, F.; HILDBECK, A. Tritrophic interactions of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn, *Anaphothrips obscures* (Thysanoptera: Thripidae), and the predator *Orius majusculus* (Heteroptera: Anthocoridae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 29, n. 4, p. 846–850, Aug. 2000.