

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

Leonardo Moreira Burtet

**MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) COM USO DE  
MILHO Bt E INSETICIDAS**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2017**

**Leonardo Moreira Burtet**

**MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) COM USO DE  
MILHO Bt E INSETICIDAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia Agroambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Agrícola**

Orientador: Prof. Dr. Jerson Vanderlei Carús Guedes

Santa Maria, RS, Brasil

2017

## Ficha catalográfica

---

© 2017

Todos os direitos autorais reservados a **Leonardo Moreira Burtet**. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua Coronel Niederauer, Nº 939, Apto. 404, Santa Maria, RS, Brasil

CEP: 97.015-121

Fone (55) 96845455; E-mail: leoburtet@hotmail.com

---

**Leonardo Moreira Burtet**

**MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) COM USO DE MILHO Bt E INSETICIDAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Engenharia Agroambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Agrícola**

**Aprovado em 06 de março de 2017:**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Jerson Vanderlei Carús Guedes, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Oderlei Bernardi, Dr. (UFSM)**

---

**Cláudio Roberto Franco, Dr. (UDESC)**

**Santa Maria, RS**  
**2017**

## **AGRADECIMENTOS**

À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA pela oportunidade de estudar em uma das melhores instituições do país.

Ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA pela oportunidade do mestrado.

Ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor JERSON VANDERLEI CARÚS GUEDES pela orientação, confiança, conselhos e amizade dedicada durante estes longos anos de trabalho e desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Professor ADRIANO ARRUÉ MELO pelos ensinamentos, colaboração e amizade dedicada durante estes anos de trabalho.

Ao Professor ODERLEI BERNARDI pela ajuda, paciência, conversas e amizade.

Aos colegas e grandes amigos de pós-graduação CLÉRISON RÉGIS PERINI, LUIS EDUARDO CUTIOLETTI, MAIQUEL PIZZUTI PES, RÉGIS FELIPE STACKE, JONAS ARNEMANN, ADRIANO BIALOZOR pela companhia, troca de conhecimento, experiências e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP) que de alguma forma auxiliaram na realização e condução deste trabalho, além de todos outros 6 anos de crescimento junto com esse tão importante grupo de pesquisa.

À empresa AGRUM AGROTECNOLOGIAS INTEGRADAS por disponibilizar a área e os equipamentos necessários para a execução do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Defesa Fitossanitária ANGELITA MARTINS, MARIZETE POZZOBON, FERNANDO GNOCATTO, JORGE ANTONIO SILVEIRA FRANÇA e GUSTAVO UGALDE pelo apoio em prol deste trabalho.

Aos meus pais, LUIZ e ROSAINE BURTET e minhas irmãs CAMILA E ISADORA pelo apoio incondicional, em todos os sentidos, durante toda minha vida, minha eterna gratidão.

Aos meus amigos IGOR WERNER, FELIPE BESESTIL, THIAGO BRUM, IBRAHIM KAWAR pelo apoio, motivação e parceria durante o trabalho.

## **DEDICATÓRIA**

### **OFEREÇO**

Aos meus pais e ídolos, Luiz e Rosaine Burtet.

Às minhas irmãs, Camila e Isadora.

Aos meus avós, Ornélio e Lucinda Burtet e Ananísio e Lori Moreira.

## **EPÍGRAFE**

“Cada um de nós compõe a sua história

Cada ser em si

Carrega o dom de ser capaz

E ser feliz...”

**Almir Sater**

## RESUMO

### MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) COM USO DE MILHO Bt E INSETICIDAS

AUTOR: Leonardo Moreira Burtet  
ORIENTADOR: Jerson Vanderlei Carús Guedes

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada o principal inseto-praga da cultura do milho no Brasil. Seu controle, nos últimos anos, é realizado principalmente por meio do uso de plantas Bt e pulverização de inseticidas. Visando avaliar a eficiência das proteínas Bt expressas pelos milhos disponíveis no mercado, bem como sua interação com o uso de inseticidas para o controle de *S. frugiperda* para subsidiar programas de MIP e MRI em milho Bt, foram realizados experimentos, em condição de campo, durante duas épocas de cultivo na safra 2015-16. Foram avaliadas oito tecnologias de milho Bt e um híbrido não-Bt, bem com sete programas de aplicação de inseticidas. A cada cinco dias, foram realizadas avaliações de dano, contabilizando o número de plantas danificadas e atribuindo uma nota de acordo com a Escala de Davis (1992). Para a aplicação dos inseticidas, foi estabelecido um nível de controle em que era realizada a pulverização sempre que 10% das plantas apresentassem nota de dano  $\geq 3$ . Na 1ª safra 2015/16, Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F) e Optimum Intrasect (Cry1Ab/Cry1F) e milho não-Bt necessitaram de 1 a 3 pulverizações de inseticidas para complementar o controle de *S. frugiperda*. Nesta safra, todos os inseticidas testados foram eficientes no controle. Já em milho YieldGard VT PRO (Cry1A.105/Cry2Ab2), YieldGard VT PRO 3 (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1), PowerCore (Cry1A.105/Cry2Ab2/ Cry1F), Agrisure Viptera (Vip3Aa20) e Agrisure Viptera 3 (Vip3Aa20/Cry1Ab) não foi necessário o uso de inseticidas. Na 2ª safra 2015/16, com exceção de Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3, todos as demais híbridos de milho Bt e não-Bt necessitaram de 1 a 4 pulverizações de inseticidas. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que algumas tecnologias de milho Bt (expressando genes que codificam proteínas Cry1) apresentam baixa eficiência de controle, tornando-se assim indispensável o uso de inseticidas para complementar o controle de *S. frugiperda*. Em contraste, a proteína Vip3Aa20 apresenta alta toxicidade para *S. frugiperda*, apresentando danos insignificantes à cultura. Dentre os inseticidas testados no trabalho, spinetoram (12 g de i.a./ha), de modo geral apresentou a maior eficiência de controle para lagarta-do-cartucho.

Palavras-chave: *Spodoptera frugiperda*, milho Bt, controle químico, MIP, MRI.



## ABSTRACT

### MANAGEMENT OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) WITH USE OF Bt MAIZE AND INSECTICIDES

AUTHOR: Leonardo Moreira Burtet  
SUPERVISOR: Jerson Vanderlei Carús Guedes

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), is considered the main insect-pest of corn in Brazil. Its control, in recent years, is mainly accomplished through the use of Bt plants and spray insecticides. Aiming to evaluate the efficiency of Bt proteins expressed by maize commercially available, as well as their interaction with the use of insecticides for the control of *S. frugiperda* to subsidize IPM and IRM programs in Bt maize, experiments were carried under field condition during two crop seasons in the 2015-16. Eight technologies of Bt maize and one non-Bt hybrid were evaluated, as well as seven insecticide application programs. Damage assessments were performed every five days, counting the number of damaged plants and assigning a score according to the Davis Scale (1992). For the application of the insecticides, a control level was established in which the spraying was carried out whenever 10% of the plants showed a damage score  $\geq 3$ . In the 1st season 2015/16, Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F) and Optimum Intrasect (Cry1Ab/ Cry1F) and non-Bt maize required 1 to 3 sprays of insecticides to complement the control of *S. frugiperda*. In this season, all tested insecticides were efficient in control. In the case of YieldGard VT PRO (Cry1A.105 / Cry2Ab2), YieldGard VT PRO 3 (Cry1A.105 / Cry2Ab2 / Cry3Bb1), PowerCore (Cry1A.105 / Cry2Ab2 / Cry1F), Agrisure Viptera (Vip3Aa20) and Agrisure Viptera 3 (Vip3Aa20 / Cry1Ab) the use of insecticides was not necessary. In the second crop year 2015/16, with the exception of Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3, all other hybrids of Bt and non-Bt maize required 1 to 4 sprays of insecticides. The results obtained in the present work demonstrate that some Bt maize technologies (expressing genes that encode Cry1 proteins) present low control efficiency, thus making insecticides indispensable to complement the control of *S. frugiperda*. In contrast, the Vip3Aa20 protein shows high toxicity to *S. frugiperda*, showing insignificant damage to the culture. Among the insecticides tested in the work, spinetoram (12 g of a.i./ha), in general presented the highest control efficiency for fall armyworm.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, Bt maize, chemical control, IPM, IRM.

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO 1

- Fig. 1** - Percentage of damaged plants and plants with damage rating  $\geq 3$  (Davis scale) caused by FAW in Bt and non-Bt maize. ....30
- Fig. 2** - Percentage of Bt and non-Bt maize plants with damage rating  $>3$  (Davis scale) under different insecticide programs (IP) against FAW, during the 1st season of 2015-16.....32
- Fig. 3** - Percentage of Bt and non-Bt maize plants with damage rating  $>3$  (Davis scale) under different insecticide programs (IP) against FAW, during the 2nd season of 2015-16.....34

### ARTIGO 2

- Figura 1** - Porcentagem de plantas danificadas e nota média de dano (Escala Davis) de *S. frugiperda* em milho Bt e não-Bt durante a 1ª e 2ª safra de 2015-16.....54

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

<b>Table 1</b> - Bt maize technologies evaluated.....	25
<b>Table 2</b> – Insecticides programs tested.....	26
<b>Table 3.</b> ANOVA results of the effect of Bt maize, insecticide, planting period and the interaction on plants damaged by FAW.....	28

### ARTIGO 2

<b>Tabela 1</b> - Tecnologias de milho Bt avaliadas.....	47
<b>Tabela 2</b> - Porcentagem de plantas de milho Bt e não-Bt danificadas por <i>S. frugiperda</i> e eficiência de controle de inseticidas na 1ª safra de 201516.....	55
<b>Tabela 3.</b> Porcentagem de plantas danificadas de milho Bt e não-Bt por <i>S. frugiperda</i> e eficiência de controle dos inseticidas na 2ª safra de 2015-16.....	56

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	18
3 ARTIGO 1.....	21
Managing fall armyworm, <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797), with Bt maize and insecticides in Brazil.....	21
Abstract.....	21
Highlights.....	22
Introduction.....	23
2. Material and methods .....	24
2.1. Maize plants cultivation.....	24
2.2. Experiment design .....	25
2.3. Statistical analyses .....	27
3. Results.....	27
3.1. Field efficacy of Bt maize technologies against FAW .....	28
3.2 Field efficacy of insecticides over Bt maize against FAW .....	31
4. Discussion .....	35
5. Acknowledgements .....	38
6. References.....	38
4 ARTIGO 2.....	44
DANOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO Bt E SEU CONTROLE COM INSETICIDAS .....	44
Material e Métodos.....	46
Análise estatística .....	47
Resultados e Discussão.....	48
Conclusões .....	49
Agradecimentos.....	50
Referências.....	50
5 DISCUSSÃO.....	57
6 CONCLUSÕES.....	58
ANEXOS .....	59

## 1 INTRODUÇÃO

O agronegócio no Brasil é um dos pilares para a economia do país, uma vez que representa 21,5% do PIB nacional (CEPEA, 2015). A produção nacional de grãos está projetada para mais de 2015 milhões de toneladas na safra 2016/17, sendo soja, milho e arroz os destaques da produção brasileira (CONAB, 2017). Nesse contexto, destaca-se a importância do milho no setor produtivo brasileiro, devido ao fato de representar 35% da produção nacional de grãos (CONAB, 2016).

No Brasil, o milho é cultivado em aproximadamente 16 milhões de hectares (CONAB, 2016), distribuídos em todas as regiões do país. Na maioria das regiões, o sistema de cultivo é realizado em duas safras de semeadura, sendo que nos últimos anos a segunda safra, historicamente denominada de safrinha, se tornou a mais importante, representando 61% da produção da cultura na safra 2015/16.

Esse sistema intensivo de cultivo, aliado com as condições climáticas do país, beneficiam o desenvolvimento e o ataque de pragas. Dentre as pragas com potencial de causar prejuízos à cultura, está a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)), considerada a principal praga do milho no Brasil (CRUZ et al., 2012). O sucesso dessa espécie no país se deve a alguns fatores específicos de sua bioecologia, tais como: polifagia, alimentando-se de mais de 80 espécies de plantas (CAPINERA, 2002; POGUE, 2002), dentre elas, culturas de elevada importância econômica e com ampla área de cultivo tais como milho, algodão, sorgo, arroz e pastagens (CORTEZ; WAQUIL, 1997), múltiplas gerações por ano (FARIAS et al. 2014) e grande sobreposição de cultivos de plantas hospedeiras no agroecossistema brasileiro (MARTINELLI et al., 2006).

Por se tratar da principal praga nos cultivos de milho no país, a lagarta-do-cartucho demanda intervenções e formas de controle, visto que pode causar redução de até 57% na produtividade da cultura (CRUZ et al., 1999). Dentre as formas de controle utilizadas estão principalmente o uso de inseticidas químicos pulverizados sobre a cultura e, mais recentemente, o uso de plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas com efeito inseticida, conhecidas como plantas Bt.

O controle via pulverização de inseticidas foi, durante muitos anos, a principal forma de controle de *S. frugiperda* na cultura do milho, existindo trabalhos com uso de inseticidas para o controle da praga desde a década de 60. No entanto, o uso frequente dos inseticidas químicos, ao longo dos anos, principalmente com a introdução do cultivo em “safrinha”

agravou a dificuldade de controle da praga devido à seleção de indivíduos resistentes aos principais inseticidas utilizados (DIÉZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001). Somado à redução da eficiência de muitos inseticidas, o comportamento da lagarta, de se alojar no interior do cartucho da planta, compromete ainda mais a obtenção de resultados satisfatórios de controle via pulverização. O número de aplicações para o controle de *S. frugiperda* em milho aumentaram de tal forma que em alguns países, como é o caso de Porto Rico, chegam a atingir 25 aplicações em um único ciclo da cultura, causando assim uma forte pressão de seleção de indivíduos resistentes (BELAY; FOSTER; HUCKABA, 2012).

O primeiro caso de resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas ocorreu há quase 40 anos, nos EUA, sendo constatado por Young e McMillian em 1979, em população coletada no estado da Flórida, resistente ao ingrediente ativo carbaryl. Atualmente existem relatados mais de 20 ingredientes ativos com problemas de resistência em *S. frugiperda* em todo mundo (Arthropod Pesticide Resistance Database, 2016), dentre eles, inseticidas dos grupos dos carbamatos, organofosforados, piretroides e benzoilureias. No Brasil já foram reportados casos de resistência de *S. frugiperda* para lambda-cialotrina (DIEZ-RODRÍGUEZ; OMOTO, 2001), clorpirifós (CARVALHO et al., 2013) e lufenurom (NASCIMENTO et al., 2016).

O IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) define resistência como sendo "uma mudança hereditária na sensibilidade de uma população de pragas que se reflete em falhas repetidas de um produto para atingir o nível esperado de controle, quando utilizado de acordo com a recomendação de bula". A redução na sensibilidade traz implicações para o manejo de pragas, tais como, o maior número de aplicações de agrotóxicos; o aumento da dose do produto; uso de misturas indevidas de produtos e substituição por outro, geralmente de maior toxicidade (GEORGHIU, 1983).

Vários são os mecanismos desenvolvidos pelos insetos em resposta ao uso de inseticidas, tais como, alterações comportamentais, alterações estruturais (aumentando a resistência cuticular e assim retardando a penetração da molécula inseticida no organismo) e metabólicas (com a capacidade desintoxicar ou destruir uma toxina mais rapidamente do que os insetos suscetíveis por meio de processos enzimáticos) e mudanças no sítio de ação do inseticida (CHADWICK, 1955).

Para *S. frugiperda*, os principais mecanismos de resistências são relacionados com a detoxificação dos xenobióticos por meio de enzimas monoxigenases relacionadas com glutathione S-transferases, citocromo P450 e carboxilesterases, como é o caso para os

inseticidas carbamatos, organofosforados e piretróides (McGORD; YU, 1987; CARVALHO et al. 2013, YU et al. 1991;2003).

No Brasil, na última década, uma nova alternativa de controle de insetos-praga na cultura do milho tem sido utilizada, tendo como principal foco o controle de *S. frugiperda*, além de *Helicoverpa zea* (lagarta-da-espiga) e *Diatrea saccharalis* (broca-da-cana). Com a evolução da biotecnologia, foi possível obter plantas geneticamente modificadas, que se caracterizam pela capacidade de expressar genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), que codificam a expressão de proteínas com ação inseticida, plantas essas conhecidas como plantas Bt. A utilização dessa tecnologia traz uma série de benefícios para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), ao passo que possibilita a redução no uso de inseticidas sintéticos (QAIM; ZILBERMAN, 2003) aliado à alta seletividade, mantendo assim a população de inimigos naturais (COMAS et al., 2013).

Atualmente a adoção de plantas de milho Bt, representa grande importância nesse cultivo, sendo que cerca de 80% da área semeada de milho, contém a expressão de alguma proteína Bt (CÉLERES, 2015), o que representa mais de 12 milhões de hectares. No Brasil estão liberadas para a comercialização, plantas de milho com a expressão das proteínas Cry1Ab, Cry1F, Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry3Bb1 e Vip3Aa20, sendo elas expressas de forma isolada ou piramidadas. Além de milho, ainda há uso de tecnologias Bt em outras grandes culturas, como os casos de soja com 11,9 milhões de hectares (CLIVE JAMES, 2015) e algodão com aproximadamente 385 mil hectares (CÉLERES, 2015), somando assim uma área próxima de 25 milhões de hectares com cultivo de plantas geneticamente modificadas no país, com alguma atividade inseticida.

A utilização intensa de plantas Bt, somada com a baixa adoção de áreas de refúgio, tem prejudicado a eficiência das tecnologias e coloca em risco a vida útil dessa estratégia de manejo de pragas. Em vários locais do mundo há relatos de casos de resistência e falhas de controle de *S. frugiperda* por parte das tecnologias de milho Bt. O primeiro relato confirmado de resistência de *S. frugiperda* ao milho Bt ocorreu em Porto Rico, à proteína Cry1F (evento TC1507) (STORER et al., 2010), apenas quatro anos após a liberação comercial desse evento no país, configurando o caso mais rápido de evolução de resistência a campo para uma cultura Bt (BERNARDI et al., 2011). No Brasil, também foi constatada resistência de *S. frugiperda* a milho Cry1F (FARIAS et al., 2014) e para proteína Cry1Ab (OMOTO et al., 2016).

Como alternativa para o manejo de resistência de insetos (MRI) a plantas Bt, está o uso de áreas de refúgio, que consiste na existência de uma área de plantas não-Bt, próximas da área de cultivo Bt, em que a população não está exposta a pressão de seleção, podendo

sobreviver, cruzar com indivíduos que sobreviveram à exposição com plantas Bt, produzindo assim descendentes suscetíveis.

Outra estratégia é o uso de eventos piramidados, sendo que a piramidação vem a ser a expressão de duas ou mais proteínas Bt, na mesma planta, com ação inseticida para a mesma praga-alvo (CARRIÉRE; CRICKMORE; TABASHNIK, 2015). No Brasil, desde o ano de 2009 está liberado para a comercialização de sementes de milho com expressão de mais de uma proteína inseticida. As piramidações liberadas no Brasil, na cultura do milho, são as seguintes: Cry1A.105/Cry2Ab2, Cry1F/Cry1Ab, Cry1Ab/Vip3Aa20, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F, Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1 e Cry1F/Cry1Ab/ Vip3Aa20. Porém, falhas de controle por parte de algumas dessas tecnologias têm sido percebidas em condições de campo, e podem ser explicadas por questões de resistência cruzada entre proteínas Cry1 (HERNANDEZ-RODRIGUEZ et al., 2013, HUANG et al., 2014, BERNARDI et al, 2015).

Portanto, estratégias de MIP e MRI devem ser colocadas em prática visando retardar a evolução de resistência de pragas, especialmente *S.frugiperda*, tanto para inseticidas quanto para plantas de milho Bt, para que se assegure a sustentabilidade e a rentabilidade dessa cultura tão importante para o sistema agrícola brasileiro. Dentre os fundamentos do MIP então envolvidos o conhecimento dos níveis de tolerância das plantas aos danos das pragas, o monitoramento das populações para tomadas de decisão e na biologia e ecologia da cultura e de suas pragas. Partindo do estabelecimento e conhecimento a cerca desses parâmetros, partimos para utilização de técnicas de manejo visando manter a população-praga dentro de níveis aceitáveis dentro da área de cultivo e, com base em dados coletados, podemos ter a tomada de decisão para o manejo mais adequado.

A integração de métodos de controle de pragas é de fundamental importância para o sucesso e a manutenção de estratégias de manejo. A utilização de apenas uma estratégia, como por exemplo, controle químico, com baixa rotação de mecanismos de ação ou apenas utilização de plantas Bt é de alto risco, uma vez que a pressão de seleção sobre os indivíduos é intensa e a probabilidade de ocorrer uma evolução de resistência é elevada, permitindo que indivíduos desenvolvam a habilidade de tolerar, cada vez mais, doses que seriam letais para a maioria dos indivíduos da população.

A aplicação de inseticidas sobre áreas de milho Bt é uma realidade na América Latina, com até 4 aplicações para se atingir um controle satisfatório sobre tecnologias expressando tanto uma proteína, quanto em tecnologias com piramidação de proteínas (BLANCO et al.,



2016). Nesse contexto, é necessário conhecer o comportamento dos inseticidas sobre os diferentes eventos tecnológicos de plantas Bt disponíveis no mercado.

Tendo em vista a escassez de trabalhos sobre a situação de controle das tecnologias de milho Bt para *S. frugiperda*, em condições de campo, bem como, a eficiência de controle dos principais inseticidas utilizados no manejo dessa praga, o presente trabalho visa gerar resultados científicos sobre a interação desses fatores, bem como, buscar subsidiar as estratégias do Manejo Integrado de Pragas e o Manejo da Resistência de *S. frugiperda* na cultura do milho.

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE, Michigan State University. Disponível: <<http://www.pesticideresistance.org>>. Acesso em: 02 set. 2016.

BELAY D. K., HUCKABA, R. M., FOSTER J. Susceptibility of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (lepidoptera: noctuidae), at Santa Isabel, Puerto Rico, to Different insecticides. Florida Entomologist, n. 95, p. 476-478. 2012.

BERNARDI, D., SALMERON, E., HORIKOSHI, R.J., BERNARDI, O., DOURADO, P.M., CARVALHO, R.A., MARTINELLI, S., HEAD, G.P., OMOTO C., 2015. Cross-Resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. PLoS One 10, e0140130.

BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: BORÉM, A.; ALMEIDA, G. D. de. Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. Cap. 9, p. 179-204.

BLANCO C. A., CHIARAVALLE, W., DALLA-RIZZA, M., FARIAS J.R., GARCÍA-DEGANO, M. F., GASTAMINZA, G., MOTA-SANCHEZ, D., MURUA, M. G., OMOTO C., PIERALISI B. K., RODRIGUEZ, J., RODRIGUEZ-MACIEL, J. C., TERAN-SANTOFIMIO, H., TERAN-VARGAS, A. P., VALENCIA, S. J, WILLINK, E. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. Current Opinion in Insect Science, n. 15, p. 131-138.2016.

CAPINERA, J. L., Handbook of vegetable pests. San Diego: Academic Press, 2002. 2700 p.

CARRIÈRE, Y., CRICKMORE, N., TABASHNIK, B.E., 2015. Optimizing pyramided transgenics Bt crops for sustainable pest management. National Biotechnology. 33, 161-168.

CARVALHO, R.A., OMOTO, C., FIELD, L.M., WILLIAMSON, M.S., BASS, C., 2013. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Plos One 8, e62268.

CÉLERES, 2015. 2nd Follow-up on agricultural biotechnology adoption for the 2014/15 Crop. <<http://www.celeres.com.br>> Acesso em 10 de janeiro de 2017.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - PIB do Agronegócio - Dados de 1995 a 2015. <<http://www.cepea.esalq.usp.br>> Acesso em 27 de dezembro de 2016.

CHADWICK, L. Physiological aspects of insect resistance to insecticides. Origins of resistance to toxic agents. p. 133-147, 1955.

CLIVE JAMES, 2015. ISAAA Brief 51-2015: Executive Summary.< <http://isaaa.org/>> Acesso em 15 de janeiro de 2017.

COMAS C, LUMBIERRES B, PONS X, ALBAJES R No effects of *Bacillus thuringiensis* maize on nontarget organisms in the field in southern Europe: a meta-analysis of 26 arthropod taxa. *Transgenic Resistance* 23:135–143, 2013.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento - Acomp. safra bras. grãos, v. 12 Safra 2015/16 - Décimo Segundo levantamento, Brasília, p. 1-182, setembro 2016.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento - Acomp. safra bras. grãos, v. 4 Safra 2016/17 - Quarto Segundo levantamento, Brasília, p. 1-160, Janeiro, 2017.

CORTEZ, M. G. R.; WAQUIL, J. M. Influência de cultivar e nível de infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no rendimento de sorgo. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira, Jaboticabal*, v. 26, p. 407-410, 1997.

CRUZ, I., FIGUEIREDO, M., OLIVEIRA, A.C., VASCONCELOS, C.A., 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. *International Journal of Pest Management*. 45, 293-296.

CRUZ, I., FIGUEIREDO, M., SILVA, R.B., SILVA, I.F., PAULA, C.S., FOSTER, J.E., 2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in maize. *International Journal of Pest Management*. 58, 83-90.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G.I., OMOTO, C. 2001. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*. 30, 311-316.

E. MCCORD JR., S.J. YU, The mechanism of carbaryl resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 27 (1987) 114.

FARIAS, J.R., ANDOW, D.A., HORIKOSHI, R.J., SORGATTO, R.J., FRESIA, P., SANTOS, A.C., OMOTO, C., 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Protection*. 64, 150-158.

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

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.S., HERNANDÉZ-MARTÍNEZ, P., RIE, J.V., ESCRICHE, B., FERRÉ, J., 2013. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. *Plos One* 8, e68164.

HUANG, F., QURESHI, J.A., MEAGHER JR., R.L., REISIG, D.D., HEAD, G.P., ANDOW, D.A., NI, X., KERNS, D., BUNTIN, G.D., NIU, Y., YANG, F., DANGAL, V., 2014. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single gene versus pyramided Bt maize. *Plos One* 9, e112958.

IRAC - Insecticide Resistance Action Committee. Resistance. 2017.<<http://www.irc-online.org/about/resistance>> Acesso em 15 de janeiro de 2017.

QAIM, M., ZILBERMAN D.. Yield Effects of Genetically Modified Crops in Developing Countries. *Science* 299, 900-902, 2003.

MARTINELLI, S.; BARATA, R.M.; ZUCCHI, M.I.; SILVA-FILHO, M.C.; OMOTO, C. Characterization of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) population associated to maize and cotton crops in Brazil. *Journal of Economic Entomology*, v. 99, p. 519-526, 2006.

NASCIMENTO, A.R.B., FARIAS, J.R., BERNARDI, D., HORIKOSHI, R.J., OMOTO, C., 2016. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. *Pest Management Science*. 72, 810-815.

OMOTO, C., BERNARDI, O., SALMERON, E., SORGATTO, R.J., DOURADO, P.M., CRIVELLARI, A., CARVALHO, R.A., WILLSE, A., MARTINELLI, S., HEAD, G.P., 2016. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. *Pest Management Science*. 72, 1727-1736.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society*, Philadelphia, v. 43, p. 1-202, 2002.

STORER, N.P., BABCOCK, J.M., SCHLENZ, M., MEADE, T., THOMPSON, G.D., BING, J.W., HUCKABA, R.M., 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. *Journal of Economic Entomology* 103, 1031-1038.

YOUNG, J. R.; MCMILLIAN, W. W. Differential feeding by two strains of fall armyworm larvae on carbaryl surfaces. *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 72, p. 202-204, 1979.

YU, S. J. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Pesticide biochemistry and physiology*, n. 39, p. 84-91. 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*, n. 77, p. 1-11. 2003.

### 3 ARTIGO 1

#### **Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), with Bt maize and insecticides in Brazil**

Leonardo Moreira Burtet<sup>a1</sup>, Oderlei Bernardi<sup>a</sup>, Adriano Arrué Melo<sup>a</sup>, Maiquel Pizzuti Pes<sup>a</sup>,  
Thiago Tales Strahl<sup>a</sup> and Jerson Vanderlei Carús Guedes<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Department of Plant Protection, Federal University of Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105-900, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.*

#### **Abstract**

Transgenic maize plants expressing insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) are valuable options for managing fall armyworm (FAW), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in Brazil. However, control failures have been reported and insecticides were used to complement the control of this pest. Based on this, we evaluated the performance of Bt maize technologies and their integration with insecticides against FAW. During the early- and late-planted maize of 2015/16 season, every five days, we assessed damage caused by FAW in Bt and non-Bt maize. Insecticide sprays were sprayed when 10% of plants showed damage rating  $\geq 3$  (Davis scale). In the early planting, Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F), Optimum Intrasect (Cry1Ab/Cry1F), and non-Bt maize had more than 37% of the plants with damage rating  $\geq 3$ , requiring until three insecticide sprays. In this planting period, all the insecticides

---

<sup>1</sup> Corresponding author.

*E-mail address: leoburtet@hotmail.com (L. Burtet).*

used were effective against FAW that survive in Bt maize. In contrast, YieldGard VT PRO (Cry1A.105/Cry2Ab2), YieldGard VT PRO 3 (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1), PowerCore (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), Agrisure Viptera (Vip3Aa20) and Agrisure Viptera 3 (Vip3Aa20/Cry1Ab) showed less than 7% of the plants with damage rating  $\geq 3$ , and did not require insecticide sprays. In late planting maize of 2015/16 season, with the exception of Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3, all other Bt maize tested had more than 40% of plants with damage rating  $\geq 3$ , requiring until four insecticide sprays. Spinetoram in the 1st and 2nd spray; methomyl + chlorantraniliprole (1st spray) and indoxacarb (2nd spray); lambda-cyhalothrin + lufenuron (1st spray) and lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (2nd spray) were the most effective against FAW larvae surviving in Bt and non-Bt maize.

*Keywords:* Fall armyworm, transgenic maize, chemical control, IPM, resistance management

### **Highlights**

Transgenic maize is used against FAW in Brazil; however, control failures were reported.

The association of Bt maize and insecticides to control FAW were evaluated in this study.

Maize plants expressing Cry proteins were the most damaged by FAW, requiring insecticide sprays.

Spinetoram, indoxacarb, and mixtures containing chlorantraniliprole were effective against FAW surviving in Bt maize.

The association of Bt maize and insecticides is a valuable strategy to manage FAW in Brazil.

## Introduction

Fall armyworm (FAW), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), is the most destructive species of maize in Brazil and other South American countries (Pogue, 2002; Cruz, 2012). This species can reduce maize yield by up to 57%, depending of crop conditions and the hybrid used (Cruz et al., 1999). In Brazil, maize is cultivated in two seasons per year in the central-west region and, in areas with irrigation system, there is also planted in an additional season for seed production. This production system favors the occurrence of high infestations of FAW at any stage of growth (Barros et al., 2010). In contrast, in the south region in Brazil the typical planting season is from August to January, when the climatic conditions allow the plant development. In this maize-growing areas, in the early planting normally occur low infestations of FAW (Farias et al., 2014).

Historically, the control of FAW in maize has been accomplished through synthetic insecticides. However, the efficacy of this control tactic has been limited by the larval behavior of this species, which harbor inside the maize whorl, making difficult to reach the target with insecticide sprays (Carvalho et al., 2013). In addition, the intensive maize cultivation in some regions in Brazil also contributed for the rapid resistance evolution to insecticides in FAW populations. In this production system, FAW evolved resistance to several insecticides, such as: lambda-cyhalothrin (Diez-Rodríguez et al., 2001), chlorpyrifos (Carvalho et al., 2013), spinosad (Okuma, 2015) and lufenuron (Nascimento et al., 2016).

From 2007 onward, the commercial release of transgenic maize events expressing insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) provided a new tactic for FAW management. Currently, Bt maize is cultivated in more than 80% of maize-growing area in Brazil (~12.5 million ha/year) (Céleres, 2016). The rapid adoption of Bt maize has contributed for a reduction of insecticide sprays against FAW (Resende et al., 2016).

However, the continuous expression of Bt proteins on maize plants imposes an intensive selection pressure on target pest populations, favoring the resistance evolution (McGaughey and Whalon, 1992). In Brazil, FAW field-evolved resistance to Cry1F and Cry1Ab proteins expressed in maize (Farias et al., 2014; Omoto et al., 2016). This species has also developed resistance to Cry1F maize in Puerto Rico (Storer et al., 2010) and some areas of the United States (Huang et al., 2014). It was also reported a high frequency of resistance to pyramided maize containing Cry1 proteins in Brazilian populations of FAW (Bernardi et al., 2015a). In contrast, a low frequency of resistance was detected to Vip3Aa20 maize (Bernardi et al., 2015b).

In Brazil, the limited adoption of Integrated Pest Management (IPM) and Insect Resistance Management (IRM) strategies has negatively affected the control of FAW in maize. Currently, the resistance evolution of FAW to Bt maize technologies increased the use of insecticides against this pest in all the maize-producing regions. Based on this, we evaluated the field performance of Bt maize technologies and their integration with insecticides to managing FAW in the South Brazil.

## **2. Material and methods**

### **2.1. Maize plants cultivation**

The Bt maize plants were cultivated in Santa Maria, Rio Grande do Sul State, Brazil (29°43'28" S and 53°33'34" W), under field conditions, during the crop season of 2015/16. The early-planted trial was sown on November 25, 2015, and the late-planted trial on January 4, 2016, at a density of four seeds/m linear. At sowing, 275 kg/ha of NPK (5-20-20) were applied, and at V<sub>4</sub> and V<sub>8</sub> stages of growth, 100 kg N/ha were also used. In the pre-planting, it was used glyphosate herbicide (1620 g a.i./ha) for weed management. At 15 and 30 days after



maize emergence, a mixture of atrazine + tembotrione (2500 + 100 g a.i./ha) was also used to weed control.

## 2.2. Experiment design

The Bt maize technologies were sowed in four identical blocks arranged in a randomized design with treatments distributed in a factorial arrangement  $9 \times 7 \times 2$ , with four plots per block (each plot composed by five maize rows — 4 m length  $\times$  0.45 m between rows). Factor A was represented by eight Bt maize hybrids and one non-Bt maize (control) (Table 1). Due to lack of commercial seeds of the non-Bt isoline for each Bt maize, only one non-Bt maize hybrid was used as control. Factor B was composed by six different insecticides and the control treatment (water) (Table 2). Factor C referred to the planting periods (early and late).

**Table 1.** Bt maize technologies evaluated.

Code	Hybrid	Technology	Event	Bt protein
TL	Syngenta 3949	Agrisure TL	Bt11	Cry1Ab
HX	Biogene 7060	Herculex	TC1507	Cry1F
Vip	Syngenta Supremo	Agrisure Viptera	MIR162	Vip3Aa20
VT PRO	Agroeste 1572	YieldGard VT PRO	MON89034	Cry1A.105/Cry2Ab2
INT	Pioneer 30F53	Optimum Intrasect	MON810 $\times$ TC 1507	Cry1F/Cry1Ab
Vip3	Syngenta Status	Agrisure Viptera 3	Bt11 $\times$ MIR162 $\times$ GA21	Cry1Ab/Vip3Aa20
PW	Morgan 30A77	PowerCore	MON89034 $\times$ TC1507	Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F
VT PRO 3	Agroeste 1677	VT PRO 3	MON89034 $\times$ MON88017	Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1
Non-Bt (control)	Pioneer 30F53	-	-	-

**Table 2.** Insecticides programs tested.

<b>Code</b>	<b>Insecticide</b>	<b>Dose (g a.i./ha)</b>	<b>Spray sequence<sup>a</sup></b>
<b>IP1</b>	Chlorfenapyr	192	A
	Chlorfenapyr	192	B
<b>IP2</b>	Triflumuron + thiodicarb	48 + 120	A
	Flubendiamide	72	B
<b>IP3</b>	Spinetoram	12	A
	Spinetoram	12	B
<b>IP4</b>	Methomyl + chlorantraniliprole	322.5 + 25	A
	Indoxacarb	60	B
<b>IP5</b>	Chlorpyrifos + diflubenzuron	720 + 96	A
	Chlorpyrifos + diflubenzuron	720 + 96	B
<b>IP6</b>	Lambda-cyhalothrin	+	
	lufenuron	2.5 + 15	A
	Lambda-cyhalothrin chlorantraniliprole	+ 7.5 + 15	B
<b>IP7</b>	Control	-	-

<sup>a</sup> When 10% of the quantified plants showed damage rating  $\geq 3$  (Davis scale), insecticide sprays were performed.

A - First spray; B - Second spray. If more sprays were need, we used the B and A sequence.

Damage caused by natural infestations of FAW in Bt and non-Bt maize were evaluated every five days in leaf whorl of 10 consecutive plants/plot. A damage rating was attributed to each plant according to the Davis scale (0 = no damage to 9 = severe damage) (Davis et al., 1992). Then, these results were converted to percentage of plants with damage rating  $\geq 3$ . In

addition, plants with any FAW damage was also counted (converted into percentage of plants with leaf damage). The spray of insecticides was held when 10% of the quantified plants in each sampling showed damage rating  $\geq 3$ . The number of plants with damage rating  $\geq 3$  is suggested as a criterion to use insecticides against FAW in Bt and non-Bt maize (refuge) in Brazil (Insect Resistance Action Committee – IRAC Brazil, 2015). To perform insecticide sprays, a pressurized back spray with CO<sub>2</sub> containing a 2-m bar and 0.5 m nozzle spacing (XR 110.02 fan-type nozzle tips) was used. The volume of syrup was 200 l/ha.

### **2.3. Statistical analyses**

The percentage of maize plants with damage caused by FAW and percentage of plants with damage ratings  $\geq 3$  were subjected to the studentized residuals analysis to confirm the assumption of normality with a Shapiro-Wilk test using PROC UNIVARIATE procedure in SAS<sup>®</sup> 9.1 (SAS Institute, 2002). Then, data were subjected to three-way analysis of variance (ANOVA) using PROC GLM procedure in SAS 9.1, which included Bt maize, insecticide, planting period, and the interactions as fixed factors in the model. Treatment differences were determined by least-square means statement (PDIF option in PROC GLM) with Tukey adjustment ( $P = 0.05$ ) in SAS 9.1 (SAS Institute, 2002).

### **3. Results**

There was significant interaction between Bt maize  $\times$  insecticide  $\times$  planting period for the percentage of plants damaged and plants with damage rating  $\geq 3$  (Table 3). There was also a significant interaction between Bt maize  $\times$  insecticide, Bt maize  $\times$  planting period, and insecticide  $\times$  planting period for both variables evaluated. The factors maize, insecticide, and planting period also had a significant effect in the number of plants damaged by FAW and plants with damage rating  $\geq 3$  (Table 3).

**Table 3.** ANOVA results of the effect of Bt maize, insecticide, season and the interaction on plants damaged by FAW.

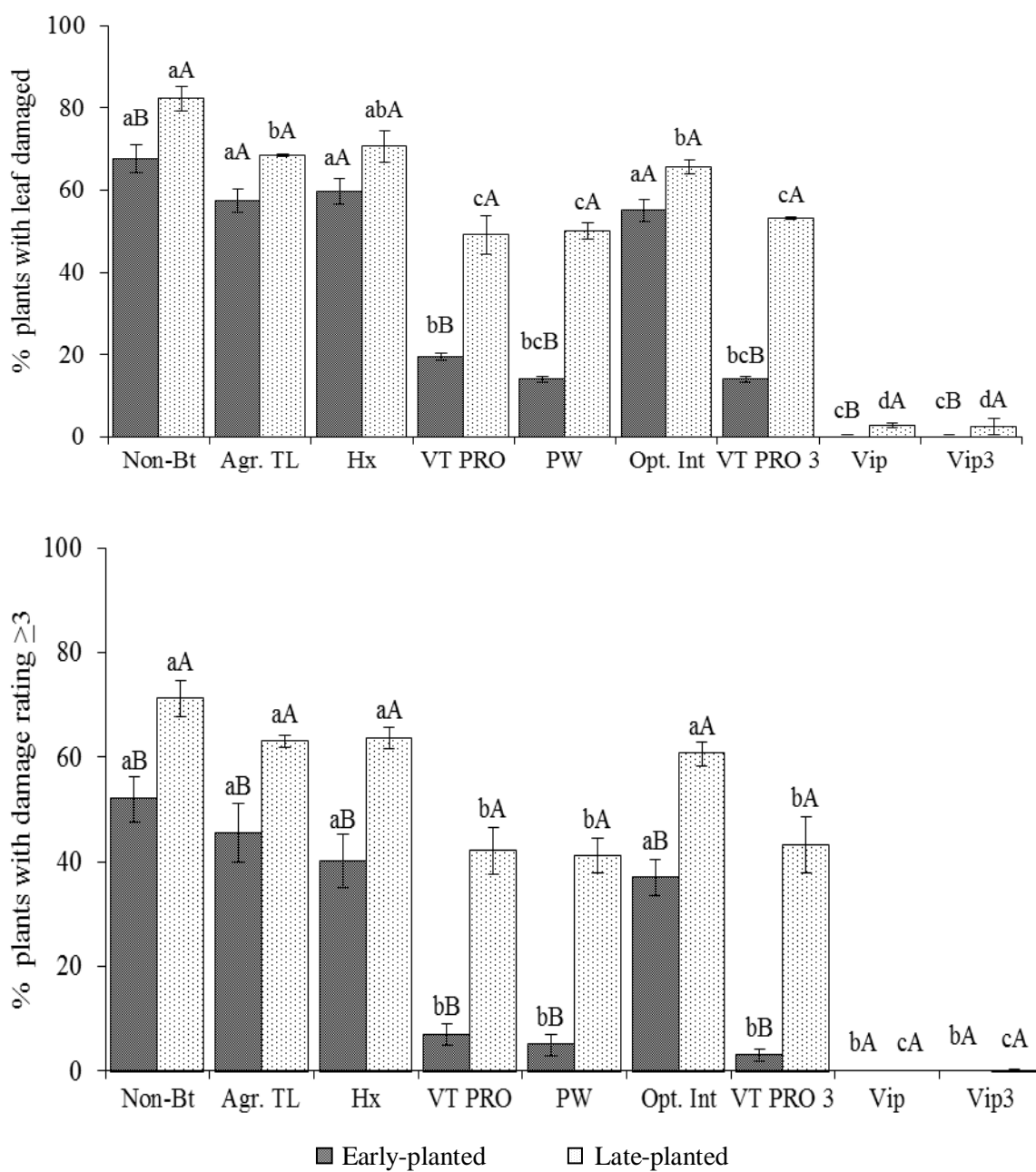
Source of variation	df	% plants damaged		% plants with damage rating $\geq 3$	
		F	P	F	P
<b>Bt maize × insecticide × planting period</b>	48	3.91	<0.0001	5.31	<0.0001
<b>Bt maize × insecticide</b>	48	11.66	<0.0001	18.53	<0.0001
<b>Bt maize × planting period</b>	8	17.46	<0.0001	39.23	<0.0001
<b>Insecticide × planting period</b>	6	11.33	<0.0001	31.61	<0.0001
<b>Bt maize</b>	8	354.85	<0.0001	254.56	<0.0001
<b>Insecticide</b>	6	187.74	<0.0001	281.74	<0.0001
<b>planting period</b>	1	545.10	<0.0001	900.52	<0.0001
<b>Model (total)</b>	125	43.73	<0.0001	50.20	<0.0001
<b>Error</b>	378				
<b>Corrected total</b>	503				

### 3.1. Field efficacy of Bt maize technologies against FAW

There were significant differences in the efficacy of Bt maize against FAW. In early-planted maize of 2015/16, plants damaged by FAW was significantly higher in Agrisure TL, Herculex and Optimum Intrasect than other Bt maize evaluated, ranging from 55 to 59%, no differing from each other and non-Bt maize (67% of plants damaged) (Fig. 1). The damage of FAW in YieldGard VT PRO (19%), YieldGard VT PRO 3 (14%) and PowerCore (14%) was similar, but significantly lower than the other Bt maize. In contrast, Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 differed from previous Bt maize technologies, with less than 0.5% of the plants damaged by FAW (Fig. 1). In late-planted maize of 2015/16, there was a significant increase of damage caused by FAW in Bt maize, when compared to the early planting. With

the exception of Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 (less than 3% of the plants with leaf damage), the other Bt maize evaluated had up to 49% of plants damaged. In non-Bt maize, more than 80% of plants presented damage of FAW.

In early-planted maize of 2015/16, Agrisure TL, Herculex and Optimum Intrasect had more than 37% of plants with damage rating  $\geq 3$  (Davis scale), and did not differ from each other and non-Bt maize (52% of plants with rating  $\geq 3$ ) (Fig. 1). In contrast, YieldGard VT PRO (7%), YieldGard VT PRO 3 (3%), PowerCore (5%), Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 (without damage) showed a smaller number of plants with damage rating  $\geq 3$ , and did not differ from each other. In late-planted maize of 2015/16, there was a significant increase in plants with damage rating  $\geq 3$ , when compared to the early planting. All the Bt maize expressing Cry proteins presented more than 41% of plants with damage rating  $\geq 3$ . In Agrisure TL, Herculex and Optimum Intrasect, more than 60% of the plants presented damage rating  $\geq 3$ , and did not differ from each other and from non-Bt maize ( $\sim 70\%$  of the plants with damage rating  $\geq 3$ ). In contrast, YieldGard VT PRO (42%), YieldGard VT PRO 3 (43%) and PowerCore (41%) had the lowest number of plants with damage rating  $\geq 3$ , and did not differ from each other. On the other hand, in Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 less than 0.5% of plants showed damage rating  $\geq 3$ , differing from the other Bt maize. In summary, in both planting periods, only Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 showed negligible damage caused by FAW.

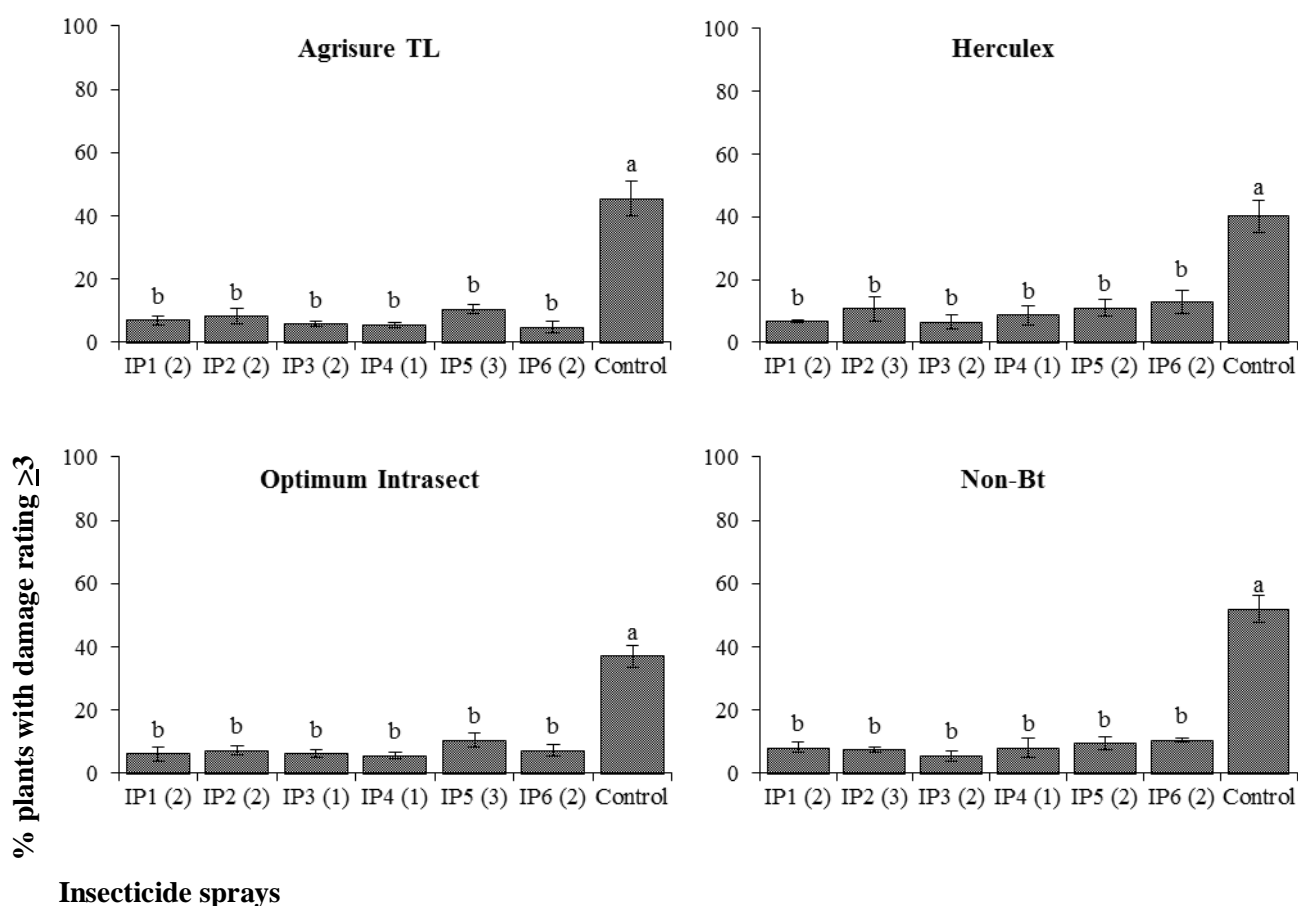


**Fig 1.** Percentage of damaged plants and plants with damage rating  $>3$  (Davis scale) caused by FAW in Bt and non-Bt maize. Bars ( $\pm$  EP) with the same lowercase letter in each planting

period do not differ. Bars with the same capital letter for each maize technology do not differ significantly from each other (LSMEANS with Tukey adjustment;  $P > 0.05$ ).

### **3.2 Field efficacy of insecticides over Bt maize against FAW**

In early-planted maize of 2015/16, Agrisure TL, Herculex, Optimun Intrasect and non-Bt maize showed more than 10% of plants with damage rating  $\geq 3$ , requiring until three insecticide sprays to complement the FAW control. All the insecticide tested over Bt and non-Bt maize significantly reduced the damage of FAW (less than 13% of plants with damage rating  $\geq 3$ ) (Fig. 2). In contrast, in the respective Bt maize without insecticides sprays, the percentage of plants with damage rating  $\geq 3$  ranged from 37 to 45%. In non-Bt maize without insecticides, the percentage of plants with damage rating  $\geq 3$  was greater than 52%. In this planting period, YieldGard VT PRO, YieldGard VT PRO 3, PowerCore, Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 presented lower than 8% of the plants with damage rating  $\geq 3$ , and did not require insecticide sprays.

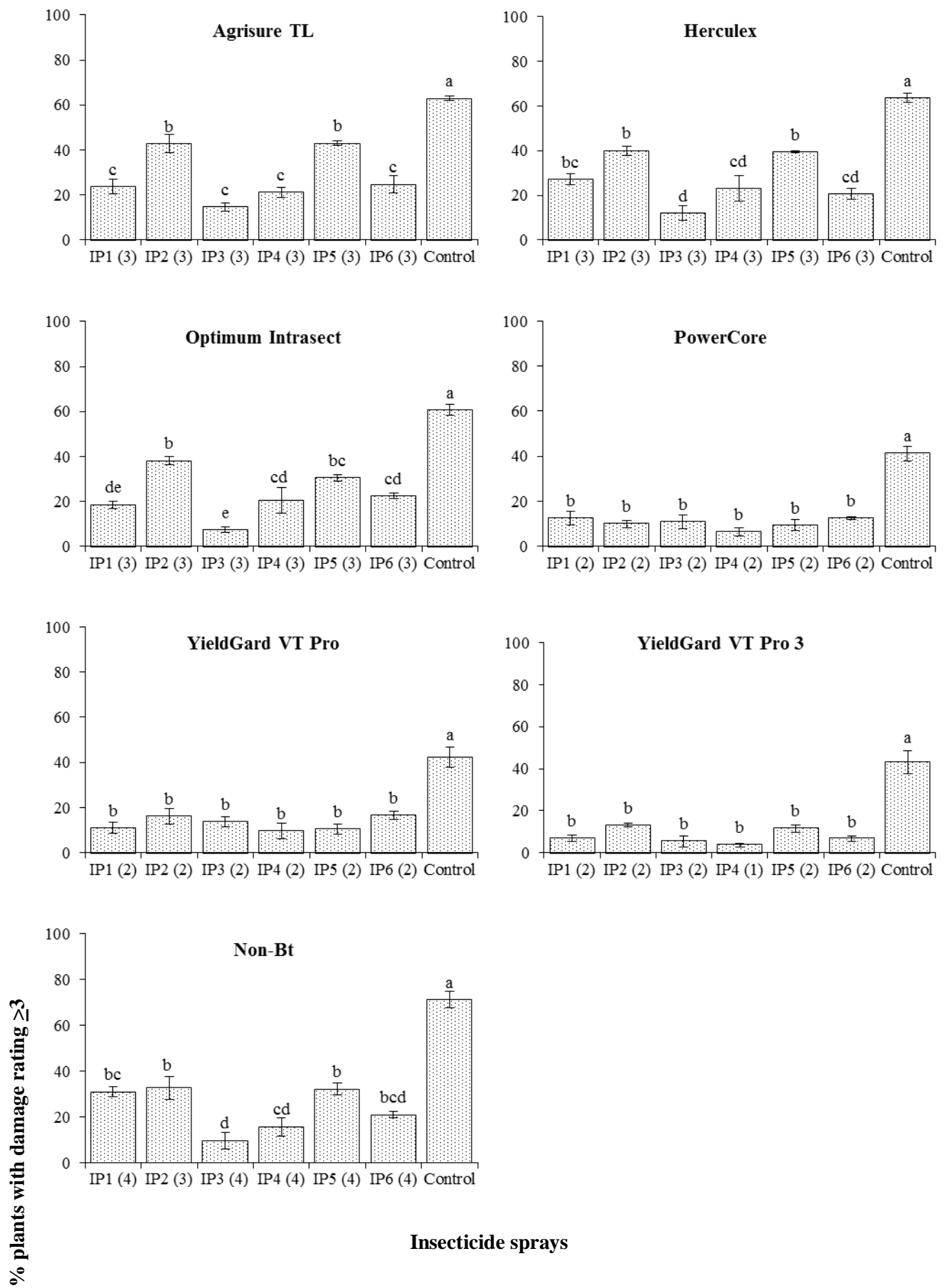


**Fig 2.** Percentage of Bt and non-Bt maize plants with damage rating  $>3$  (Davis scale) under different insecticide programs (IP) against FAW, during early-planted maize of 2015/16. Bars ( $\pm$  EP) with the same letter do not differ (LSMEANS with Tukey adjustment;  $P > 0.05$ ). The values between parentheses represent the number of sprays.

In late-planted maize of 2015/16, Agrisure TL, Herculex, Optimum Intrasect, YieldGard VT PRO, YieldGard VT PRO 3, and PowerCore showed control failures of FAW, requiring until four insecticide sprays. The insecticide programs IP1, IP3, IP4 and IP6 reduced the damage caused by FAW to Agrisure TL (less than 24% of plants with damage rating  $\geq 3$ ), when compared to IP2 and IP5 (more than 42% of plants with rating  $\geq 3$ ) (Fig. 3). In contrast, this Bt maize without insecticide sprays had more than 60% of plants with damage rating  $\geq 3$ . In Herculex, Optimum Intrasect and non-Bt maize, the insecticide program IP3 was the most



effective (less than 12% of plants with rating  $\geq 3$ ), differing significantly from the other insecticides tested. However, when we used the insecticide programs IP1 and IP2, the percentage of plants with damage rating  $\geq 3$  ranged from 18 to 40% (Fig. 3). In these Bt maize technologies without insecticide sprays, the percentage of plants with damage rating  $\geq 3$  ranged from 60 to 71%. Over PowerCore, YieldGard VT Pro, and YieldGard VT Pro 3, all the insecticides tested showed similar control of surviving FAW larvae, with less than 16% of plants with damage rating  $\geq 3$  (Fig. 3). However, these Bt maize technologies without insecticide sprays had more than 40% of plants with damage rating  $\geq 3$ . In the late-planted maize, only Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 showed negligible damage of FAW (less than 0.2% of plants with damage rating  $\geq 3$ ), not requiring insecticides sprays. In this planting period, spinetoram in 1st and 2nd sprays; methomyl + chlorantraniliprole (1st spray) and indoxacarb (2nd spray); lambda-cyhalothrin + lufenuron (1<sup>st</sup> spray) and lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (2nd spray) were the most effective against FAW larvae that survive in Bt and non-Bt maize.



**Fig 3.** Percentage of Bt and non-Bt maize plants with damage rating >3 (Davis scale) under different insecticide programs (IP) against FAW, during late-planted maize of 2015/16. Bars ( $\pm$  EP) with the same letter do not differ (LSMEANS with Tukey adjustment;  $P > 0.05$ ). The values in parentheses represent the number of sprays.

#### 4. Discussion

The Agrisure TL, Herculex and Optimum Intrasect maize had low efficacy against FAW, during the early- and late-planted maize of 2015/16. Bt maize plants expressing only Cry1Ab protein, as Agrisure TL and MON 810, presented a reasonable efficacy against FAW at the beginning of their use in Brazil (Fernandes et al., 2003; Lourenção and Fernandes, 2013). However, from 2011/12 season onward severe damage caused by FAW was detected in Cry1Ab maize (Okumura et al., 2013; Omoto et al., 2016). The damage of FAW in Cry1Ab maize is attributed, in part, to the low natural susceptibility to this Bt protein, which has low affinity and rapid degradation in the midgut of this species (Aranda et al., 1996; Miranda et al., 2001). However, the survivor of FAW in Cry1Ab maize is also a consequence of resistance evolution (Omoto et al., 2016; Sousa et al., 2016). Similarly, Herculex maize also presented effective control of FAW in the first years after commercial release in Brazil (Okumura et al., 2013). From 2011 onward, severe damage of FAW in this Bt maize was reported, as consequence of field-evolved resistance to Cry1F protein (Farias et al., 2014; Monnerat et al., 2015). The resistance of FAW to Cry1Ab and Cry1F proteins negatively affected the performance of Optimum Intrasect, which express both Bt proteins, due to cross-resistance (Hernández-Rodríguez et al., 2013; Carrière et al., 2015; Jakka et al., 2015).

The YieldGard VT PRO, YieldGard VT PRO 3 and PowerCore maize were effective against FAW during the early-planted maize of 2015/16; however, had control failures in the late planting. In south Brazil, the cool winter (April to July) is limiting for the cultivation of

main host plants of FAW as maize, sorghum and rice, causing a reduction in the population density of this pest. Because of this, in early planting of maize, after the winter period, is expected a lower infestation of FAW, which may explain the better performance of some Bt maize technologies in this period. In contrast, in late planting due to increase in the cultivated host plants, as consequence of favorable weather conditions, is expected a higher FAW population density and, consequently, severe infestations in maize. The damage of FAW in Bt maize technologies in late planting can also be a consequence of selection pressure and low adoption of refuge areas for resistance management in the early planting, which may increase the frequency of resistant individuals and, consequently, damage in maize technologies that express pyramided Cry1 proteins. This hypothesis is supported by the presence of cross-resistance between Cry1 proteins, which have high similarity in amino acid sequence and use the same binding sites in the midgut of FAW (Huang et al., 2014; Bernardi et al., 2015b; Santos-Amaya et al., 2015; Carrière et al., 2015; Horikoshi et al., 2016). Even the expression of Cry2Ab2 protein in some pyramided maize plants, its toxicity is not enough to kill FAW larvae resistant to Cry1 proteins (Bernardi et al., 2015b; Carrière et al., 2015; Santos-Amaya et al., 2015). On the other hand, the Cry3Bb1 protein expressed in YieldGard VT PRO 3 does not have FAW as pest-control target (Carrière et al., 2016). In Brazil, this Bt protein has been expressed in maize against larvae of *Diabrotica speciosa* (Germar).

In our study, Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3 maize were the most effective against FAW in both planting periods. This performance is due to the high toxicity of Vip3Aa20 protein to FAW, and low frequency of resistance alleles to this protein in Brazilian populations of this species (Bernardi et al., 2015b, c). In the IRM context, Vip3A proteins are essential to reduce the frequency of resistant individuals to Cry protein, and vice-versa (Bernardi et al., 2015b). This is possible due to absence of cross-resistance between Vip and Cry proteins, which do not have homology in amino acid sequence and use distinct binding

sites in midgut of the target pests (Lee et al., 2003; Jackson et al., 2007; Carrière et al., 2015). Therefore, maintaining FAW population susceptibility to Cry and Vip proteins expressed in maize is essential for the long term use of this control tactic in Brazil.

In early-planted maize of 2015/16, it was necessary insecticides over Agrisure TL, Herculex, and Optimum Intrasect to complement the FAW control. All the insecticides used reduced damages caused by FAW to these Bt maize. In late-planted maize, with the exception of Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3, all the other Bt maize evaluated requiring insecticide sprays for FAW control. The spinetoram in 1st and 2nd sprays; methomyl + chlorantraniliprole (1st spray) and indoxacarb (2nd spray); lambda-cyhalothrin + lufenuron (1st spray) and lambda-cyhalothrin + chlorantraniliprole (2nd spray) showed the better efficacy against FAW larvae that survive in Bt and non-Bt maize. These insecticides were also effective against FAW when used over non-Bt maize in the central-west region in Brazil and in the United States (Tomquelski et al., 2007; Hardke et al., 2011; 2014). However, it is worth mentioning that, a high frequency of resistance to spinosad, lambda-cyhalothrin, and lufenuron was already detected in Brazilian populations of FAW (Diez-Rodríguez et al., 2001; Okuma, 2015; Nascimento et al., 2016). In contrast, it was reported a low frequency of resistance to chlorantraniliprole in the same populations (Ribeiro, 2014). These aspects reinforce the need for adoption of IRM strategies, such as, rotation of insecticides with distinct mode of action and use of selective insecticides against FAW.

In summary, Bt maize technologies that express Cry1 proteins, isolated or pyramided, shows control failures of FAW. This demonstrate that, in the next seasons, there will be an increase in the insecticide sprays over Bt maize to complement the control of this species. Therefore, monitoring the presence of FAW larvae and damage in Bt and non-Bt maize plants is necessary to support the decision-making to use synthetic insecticides. According to IRAC Brazil (2015), the use of insecticides against FAW over Bt maize and non-Bt maize (refuge)

is recommended when 20% of the plants showed damage rating  $\geq 3$ . In the refuge, insecticides should be sprayed only until V<sub>6</sub> stage of growth. However, Bt maize could also be integrated with other control tactics as biological control, which would represent the resumption of IPM to managing FAW.

## 5. Acknowledgements

We thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for granting a scholarship to the first author.

## 6. References

- Aranda, E., Sanchez, J., Peferoen, M., Güereca, L., Bravo, A., 1996. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* 68, 203-212.
- Barros, E.M., Torres, J.B., Bueno, A.F., 2010. Oviposition, development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. *Neotrop. Entomol.* 39, 996-1001.
- Bernardi, D., Salmeron, E., Horikoshi, R.J., Bernardi, O., Dourado, P.M., Carvalho, R.A., Martineli, S, Head, G.P., Omoto C., 2015a. Cross-Resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. *PLoS One* 10, e0140130.
- Bernardi, O., Bernardi, D., Ribeiro, R.S., Okuma, D.M., Salmeron, E., Fatoreto, J., Medeiro, F.C.L., Burd, T., Omoto, C., 2015b. Frequency of resistance to Vip3Aa20 toxin from

- Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. *Crop Prot.* 76, 7-14.
- Bernardi, O., Bernardi, D., Amado, D., Sousa, R.S., Fatoletto, J., Medeiro, F.C.L., Conville, J., Burd, T., Omoto, C., 2015c. Resistance risk assessment of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) to Vip3Aa20 insecticidal protein expressed in maize. *J. Econ. Entomol.* 108, 2711-2719.
- Carrière, Y., Crickmore, N., Tabashnik, B.E., 2015. Optimizing pyramided transgenics Bt crops for sustainable pest management. *Nat. Biotech.* 33, 161-168.
- Carrière, Y., Fabrick, J.A., Tabashnik, B.E., 2016. Can pyramids and seed mixtures delay resistance to Bt crops? *Trends Biotechnol.* 34:291-302.
- Carvalho, R.A., Omoto, C., Field, L.M., Williamson, M.S., Bass, C., 2013. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Plos One* 8, e62268.
- Céleres, 2015. 2nd Follow-up on agricultural biotechnology adoption for the 2014/15 Crop. <http://www.celeres.com.br/>.
- Cruz, I., Figueiredo, M., Silva, R.B., Silva, I.F., Paula, C.S., Foster, J.E., 2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in maize. *Int. J. Pest. Manag.* 58, 83-90.
- Cruz, I., Figueiredo, M., Oliveira, A.C., Vasconcelos, C.A., 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. *Int. J. Pest. Manag.* 45, 293-296.
- Davis, F.M., Ng, S.S., Willians, W.P., 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage maize for resistance to fall armyworm. *Miss. Agric. For. Exp. Stn. Res. Bull.* 9p (Technical Bulletin, 186).

- Diez-Rodríguez, G.I., Omoto, C. 2001. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* 30, 311-316.
- Farias, J.R., Andow, D.A., Horikoshi, R.J., Sorgatto, R.J., Fresia, P., Santos, A.C., Omoto, C., 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Prot.* 64, 150-158.
- Fernandes, O.D., Parra, J.R.P, Neto, A.F., Pícoli, R., Borgatto, A.F., Demétrio, C.G.B. Effect of the genetically modified maize MON 810 on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 2, 25-35.
- Hardke, J.T., Temple J.H., Leonard, B.R., Jackson R.E., 2011. Laboratory toxicity and field efficacy of selected insecticides against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Fla. Entomol.* 94, 272-278.
- Hardke, J.T., Jackson R.E, Leonard B.R., 2014. Opportunities to manage fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on Bollgard II cotton with reduced rates of insecticides. *J. Cotton Sci.* 18, 59-67.
- Hernández-Rodríguez, C.S., Hernández-Martínez, P., Rie, J.V., Escriche, B., Ferré, J., 2013. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important maize pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. *Plos One* 8, e68164.
- Horikoshi, R.J., Bernardi, D., Bernardi, O., Malaquias, J.B., Okuma, D.M., Miraldo, L.L., Amaral, F.S.A., Omoto, C., 2016. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. *Sci. Rep.* 6, 34864.
- Huang, F., Qureshi, J.A., Meagher Jr., R.L., Reisig, D.D., Head, G.P., Andow, D.A., Ni, X., Kerns, D., Buntin, G.D., Niu, Y., Yang, F., Dangal, V., 2014. Cry1F resistance in fall



- armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single gene versus pyramided Bt maize. PLoS One 9, e112958.
- Jackson, R.E., Marcus, M.A., Gould, F., Bradley Junior, J.R., Van Duyn, J.W., 2007. Cross-resistance responses of Cry1Ac-selected *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) to the *Bacillus thuringiensis* protein Vip3A. J. Econ. Entomol. 100, 180-186.
- Jakka, S.R., Gong, L., Hasler, J., Banerjee, R., Sheets, J.J., Narva, K., Blanco, C.A., Jurat-Fuentes, J.L., 2015. Field-evolved mode 1 resistance of the fall armyworm to transgenic Cry1Fa-expressing maize associated with reduced Cry1Fa toxin binding and midgut alkaline phosphatase expression. Appl. Environ. Microbiol. 82, 1023-1034.
- Lee, M.K., Walters, F.S., Hart, H., Palekar, N., Chen, J.S., 2003. Mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab delta-endotoxin. Appl. Environ. Microbiol. 69, 4648-4657.
- Lourenção, A.F., Fernandes, M.G., 2013. Evaluation of Cry1Ab and Cry1F Bt maize genotypes for the control of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith. 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions. Científica, 41, 164-188.
- McGaughey, W.H., Whalon, M.E., 1992. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. Science 258, 1451-1455.
- Miranda, R., Zamudio, F. Z., Bravo, A., 2001. Processing of Cry1Ab delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* by *Manduca sexta* and *Spodoptera frugiperda* midgut proteases: role in protoxin activation and toxin inactivation. Insect Biochem. Mol. Biol. 31, 1155-1163.
- Monnerat, R., Martins, E., Macedo, C., Queiroz, P., Praça, L., Soares, C.M., Moreira, M., Grisi, I., Silva, J., Soberon, M., Bravo, A., 2015. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified Bt toxins. PLoS One 10, e0119544.

- Nascimento, A.R.B., Farias, J.R., Bernardi, D., Horikoshi, R.J., Omoto, C., 2016. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. *Pest Manag. Sci.* 72, 810-815.
- Okuma, D.M., 2015. Genetic and molecular basis of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Entomologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- Okumura, R.S., Mariano, D.C., Dallacort, R., Zorzenoni, T.O., Zaccheo, P.V.C., Oliveira Neto, C.F., Conceição, H.E.O., Lobato, A.K.S., 2013. Agronomic efficiency of *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize hybrids in pest control on Lucas do Rio Verde city, State of Mato Grosso, Brazil. *Afr. J. Agric. Res.* 8, 2232-2239.
- Omoto, C., Bernardi, O., Salmeron, E., Sorgatto, R.J., Dourado, P.M., Crivellari, A., Carvalho, R.A., Willse, A., Martinelli, S., Head, G.P., 2016. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. *Pest Manag. Sci.* 72, 1727-1736.
- Pogue, G.M., 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem. Am. Entomol. Soc.* 43, 1-202.
- Resende, D.C.; Mendes, S.M., Marucci, R.C., Silva, A.C., Campanha, M.M., Waquil, J.M., 2016. Does Bt maize cultivation affect the non-target insect community in the agroecosystem? *Rev. Bras. Entomol.* 60, 82-93.
- Ribeiro, R.S., 2014. Monitoring the susceptibility to diamide insecticides in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- Santos-Amaya, O. F., Rodrigues, J.V.C., Souza, T.C., Tavares, C.S., Campos S.O., Guedes R.N.C., Pereira, E.J.G., 2015. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. *Sci. Rep.* 5, 18243.

- SAS Institute., 2002. Statistical Analysis System: Getting Started with the SAS Learning. SAS Institute, Cary, NC.
- Sousa, F.F., Mendes, S.M., Santos-Amaya, O.F., Araújo, O.G., Oliveira, E.E., Pereira, E.J.G., 2016. Life-history traits of *Spodoptera frugiperda* populations exposed to low-dose Bt maize. Plos One 11, e0156608.
- Storer, N.P., Babcock, J.M., Schlenz, M., Meade, T., Thompson, G.D., Bing, J.W., Huckaba, R.M., 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. J. Econ. Entomol. 103, 1031-1038.
- Tomquelski, G.V., Martins, G.L.M., 2007. Efficiency of insecticides on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) on crop maize in region of Chapadões. Rev. Bras. Milho e Sorgo 6, 26-39.

## 4 ARTIGO 2

### **DANOS DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO Bt E SEU CONTROLE COM INSETICIDAS**

LEONARDO M. BURTET<sup>1</sup>, ADRIANO A. MELO<sup>1</sup>, ODERLEI BERNARDI<sup>1</sup>, JONAS A. ARNEMANN<sup>1</sup> e EDUARDO B. BORTOLUZI<sup>1</sup>, JERSON V. C. GUEDES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil – leoburtet@hotmail.com, oderleibernardi@yahoo.com.br, adrianoarrue@hotmail.com, jonasarnemann@gmail.com, eduardobortoluzi@hotmail.com, jerson.guedes@gmail.com

**RESUMO** - No Brasil, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797), é a principal desfolhadora do milho, cujo controle tem sido realizado basicamente com milho Bt e inseticidas. Neste estudo, nós avaliamos os danos de *S. frugiperda* em milho Bt e o controle das lagartas sobreviventes com inseticidas. Durante duas safras consecutivas de 2015-16 foram avaliadas sete tecnologias de milho Bt e quatro moléculas inseticidas. As avaliações foram realizadas a cada 5 dias, contando-se o número de plantas danificadas e atribuindo-se uma nota visual de dano (Escala Davis). As pulverizações de inseticidas foram realizadas sempre que 10% das plantas apresentaram nota de dano  $\geq 3$ . Na 1ª safra de 2015-16, Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F), Optimum Intrasect (Cry1Ab/Cry1F) e milho não-Bt apresentaram danos severos de *S. frugiperda*, necessitando até três pulverizações de inseticidas para complementar o controle da praga. Todos os inseticidas testados nessa safra apresentaram eficácia superior a 65%. Em contraste, YieldGard VT PRO (Cry1A.105/Cry2Ab2), PowerCore (Cry1A.105/Cry1F/Cry2Ab2), Agrisure Viptera (Vip3Aa20) e Agrisure Viptera 3 (Vip3Aa20/Cry1Ab) apresentaram danos irrelevantes, não requerendo uso de inseticidas. Na 2ª safra de 2015-16, com exceção de Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3, todas as demais tecnologias de milho Bt avaliadas apresentaram danos significativos de *S. frugiperda*, necessitando até quatro pulverizações de inseticidas para o controle efetivo da praga. Nessa safra, o inseticida spinetoram foi aquele que apresentou a melhor eficácia de controle, variando de 55 a 83%.

**Palavras-chave:** Lagarta-do-cartucho, controle químico, milho Bt, resistência de insetos

**DAMAGES OF *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN Bt MAIZE AND ITS CONTROL WITH INSECTICIDES**

**ABSTRACT** - In Brazil, the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797), is the main pest of maize, whose control has been carried out with Bt maize and insecticides. In this study, we evaluated the damages of *S. frugiperda* in Bt maize and the control of surviving larvae with insecticides. During two consecutive seasons of 2015-16, seven Bt maize technologies and four insecticides were evaluated. During two maize seasons of 2015-16, every five days, were counted the number of damaged plants and damage rating was attributed to each plant according to the Davis scale. The insecticide sprays were carried out when 10% of the plants presented damage rating  $\geq 3$ . In the 1st season of 2015-16, Agrisure TL (Cry1Ab), Herculex (Cry1F), Optimum Intrasect (Cry1Ab/Cry1F) and non-Bt maize showed severe damage of *S. frugiperda*, requiring up to three insecticide sprays to complement the control of this pest. All the insecticides tested in this season showed efficacy greater than 65%. In contrast, YieldGard VT PRO (Cry1A.105/Cry2Ab2), PowerCore (Cry1A.105/Cry1F/Cry2Ab2), Agrisure Viptera (Vip3Aa20) and Agrisure Viptera 3 (Vip3Aa20/Cry1Ab) presented irrelevant damage and did not require insecticide use. In the 2nd season of 2015-16, with the exception of Agrisure Viptera and Agrisure Viptera 3, all other Bt maize technologies evaluated showed significant damages of *S. frugiperda*, requiring up to four insecticide sprays for the effective control. In this season, the spinetoram insecticide showed the higher control efficacy, ranging from 55 to 83%.

**Keywords:** Fall armyworm, chemical control, Bt maize, insect resistance

No Brasil, milho é cultivado em mais de 16 milhões de hectares por ano, e em todas as regiões do País (CONAB, 2016). Na maioria das regiões, o sistema de cultivo de milho tem sido realizado em duas épocas denominadas de 1ª e 2ª safra, sendo que, nos últimos anos a 2ª safra se tornou a mais representativa, com 61% da produção e mais de 25% da área total ocupada por essa cultura, durante as safras de 2015-16 (Céleres, 2015).

Dentre os insetos-praga que atacam à cultura do milho destaca-se a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), a qual é considerada a espécie mais destrutiva, podendo reduzir a produtividade em até 57%, dependendo das condições de cultivo e do

híbrido utilizado (Cruz et al., 1999; Cruz et al., 2012). O desenvolvimento desta espécie tem sido favorecido pelo sistema intensivo de produção de cultivos, que disponibiliza continuamente plantas hospedeiras para sua sobrevivência e aumento populacional. Por exemplo, na região central do Brasil, mesmo que o inverno seja seco e quente e limitante à produção de cultivos, a adoção de sistema de irrigação (pivô central) possibilita a produção de milho durante o ano todo, favorecendo o desenvolvimento da praga (Martinelli et al., 2006). Por outro lado, na região Sul, as baixas temperaturas no período de inverno limitam o cultivo de plantas hospedeiras e, conseqüentemente, desfavorecem o desenvolvimento da praga, reduzindo as infestações na safra subsequente de milho (Farias et al., 2014).

No Brasil, a liberação comercial de eventos de milho expressando proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) forneceu uma alternativa eficiente para o controle de *S. frugiperda*. No entanto, a adoção contínua de milho Bt para controle de *S. frugiperda* expõe as populações da praga a uma intensa pressão de seleção, favorecendo a evolução da resistência (McGaughey & Whalon, 1992). No Brasil, *S. frugiperda* evoluiu para resistência a Cry1F e Cry1Ab expressas em milho (Farias et al., 2014; Omoto et al., 2016). Também foi reportada uma alta frequência de resistência de *S. frugiperda* a tecnologias de milho Bt que expressam proteínas Cry1 piramidadas (Bernardi et al., 2015a).

A evolução da resistência de *S. frugiperda* a proteínas Bt expressas em milho tem ocasionado falhas repetidas de controle da praga a campo. Devido a isso, o uso de inseticidas em áreas de cultivo de milho Bt aumentou consideravelmente em todas as regiões de produção de milho no Brasil. Atualmente, o uso de milho Bt e a associação com inseticidas se tornou necessária para um controle satisfatório de *S. frugiperda* (Blanco et al., 2016). Baseado nisso, nós avaliamos os danos de *S. frugiperda* em milho Bt e o controle das lagartas sobreviventes com o uso de inseticidas.

## Material e Métodos

Os estudos foram conduzidos em condições de campo de produção com infestação natural de *S. frugiperda*, em Santa Maria-RS (29° 43' 28,02" S e 53° 33' 33,79" O), durante o ano agrícola de 2015-16. O milho foi cultivado em duas safras, sendo a 1ª safra semeada no dia 25 de novembro de 2015 e a 2ª safra no dia 4 de janeiro de 2016. O milho foi cultivado com espaçamento de 0,45 m entre linhas e densidade de 4 sementes/m linear. Foram avaliadas sete tecnologias de milho Bt (Tabela 1) e sua associação com três inseticidas. Os inseticidas

testados foram: clorfenapir (192 g i.a./ha); clorpirifós + diflubenzurom (720 + 96 g i.a./ha) e spinetoram (12 g i.a./ha).

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso (4 blocos) e cada unidade experimental (parcela) foi representada por 5 linhas de milho (4 m de comprimento  $\times$  0,45 m entre linhas). Cada bloco foi composto por 4 parcelas. As avaliações de danos de *S. frugiperda* em milho foram realizadas a cada 5 dias, nas três folhas centrais do “cartucho” de 10 plantas consecutivas da linha central de cada parcela. Para cada planta atribuiu-se uma nota de dano, de acordo com a escala Davis (0 - nenhum dano visual a 9 - danos severos) (Davis et al., 1992). Além da nota de dano também se contabilizou o número de plantas com a presença de danos no cartucho (convertido em porcentagem de plantas danificadas). A pulverização dos inseticidas foi realizada quando 10% das plantas, em cada amostragem, apresentaram nota de dano  $\geq 3$ . As pulverizações de inseticidas foram realizadas com pulverizador costal pressurizado com CO<sub>2</sub>, barra de 2 m e espaçamento entre bicos de 0,5 m (pontas tipo leque XR 110.02), sendo o volume de calda utilizado de 200 l/ha.

**Tabela 1.** Tecnologias de milho Bt avaliadas.

<b>Tecnologia</b>	<b>Evento</b>	<b>Proteína Bt</b>	<b>Híbrido</b>
<b>Agrisure TL</b>	Bt11	Cry1Ab	Syngenta 3949
<b>Herculex</b>	TC1507	Cry1F	Biogene 7060
<b>Agrisure Viptera</b>	MIR162	Vip3Aa20	Syngenta Supremo
<b>YieldGard VT PRO</b>	MON89034	Cry1A.105/Cry2Ab2	Agroeste 1572
<b>Optimum Intrasect</b>	MON810 $\times$ TC 1507	Cry1F/Cry1Ab	Pioneer 30F53
<b>Agrisure Viptera 3</b>	Bt11 $\times$ MIR162 $\times$ GA21	Cry1Ab/Vip3Aa20	Syngenta Status
<b>PowerCore</b>	MON89034 $\times$ TC1507	Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F	Morgan 30A77
<b>Não-Bt</b>	-	-	Pioneer 30F53

### **Análise estatística**

Os dados de porcentagem de plantas danificadas foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk usando o procedimento PROC UNIVARIATE no software SAS<sup>®</sup> 9.1 (SAS Institute, 2002). Em seguida, os dados foram analisados utilizando procedimento PROC GLM no software SAS<sup>®</sup> 9.1 (SAS Institute, 2002). A diferença entre os tratamentos foi determinada com o uso do procedimento LSMEANS ao nível de significância

$p = 0,05$  no software SAS<sup>®</sup> 9.1 (SAS Institute, 2002). A eficiência de controle dos inseticidas foi calculada pela fórmula de Abbott (Abbott, 1925), a partir do número de plantas danificadas presentes na avaliação realizada aos 5 dias após cada pulverização.

## Resultados e Discussão

Em geral, as tecnologias de milho Bt que expressam proteínas Cry, isoladas ou em pirâmide, apresentaram danos de *S. frugiperda* (Fig. 1). Durante a 1ª safra de 2015-16, Agrisure TL, Herculex e Optimum Intrasect foram severamente danificados por *S. frugiperda*, não diferindo do milho não-Bt (Tabela 1). Nessas tecnologias, a partir do estágio V<sub>5-6</sub> foram realizadas pulverizações de inseticidas para complementar o controle da praga. Em milho não-Bt, todos os inseticidas apresentaram eficiência superior a 64%, após duas pulverizações (Tabela 1). Em milho Herculex, Optimum Intrasect e Agrisure TL, os inseticidas spinetoram e clorfenapir foram os mais efetivos no controle de *S. frugiperda*, com eficiência superior a 80%, após duas pulverizações (Tabela 1). Em contraste, em Yieldgard VT PRO, PowerCore, Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3, não houve a necessidade do uso de inseticidas.

Na 2ª safra de 2015-16, Herculex, Agrisure TL e Optimum Intrasect e milho não-Bt também foram severamente danificados por *S. frugiperda* (Fig. 1). Devido a isso, houve a necessidade de 3 a 4 pulverizações de inseticidas para um controle da praga. Em contraste à 1ª safra, na qual se iniciou as pulverizações no estágio V<sub>5-6</sub>, na 2ª safra as pulverizações se iniciaram em V<sub>2</sub>, quando houve a maior porcentagem de plantas danificadas (Fig. 1). Na 2ª safra, com exceção de Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3, nas demais tecnologias de milho Bt testadas foi necessário o uso inseticida para controlar *S. frugiperda*. Em milho Herculex, Agrisure TL, Optimum Intrasect, PowerCore e YieldGard VT PRO, mais de 40% das plantas foram danificadas por *S. frugiperda* (Tabela 2). Em contraste, em milho não-Bt, mais de 95% das plantas foram danificadas. Durante a 2ª safra, o inseticida spinetoram foi o mais efetivo (eficiência de 80 a 94%) no controle de lagartas sobreviventes de *S. frugiperda* em Herculex, Agrisure TL, Optimum Intrasect e milho não-Bt. Em milho PowerCore e YieldGard VT PRO todos os inseticidas testados apresentam eficiência similar, variando de 50 a 63% (Tabela 2). Em contraste, em Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3 não houve a necessidade da pulverização de inseticidas, pois os danos foram insignificantes.

Os danos de *S. frugiperda* em milho Bt expressando proteínas Cry durante a 1ª e 2ª safra de 2015-16 se devem a evolução da resistência de *S. frugiperda* às proteínas Cry1F e Cry1Ab



(Farias et al., 2014; Omoto et al., 2016). No caso específico de Agrisure TL que expressa Cry1Ab, se deve também à baixa afinidade e rápida degradação da proteína no mesêntero do inseto (Aranda et al., 1996; Miranda et al., 2001). Os danos também ocorreram devido a presença de resistência cruzada entre proteínas Cry1 (Hernández-Rodríguez et al., 2013; Carrière et al., 2015; Jakka et al., 2015). Isso afetou negativamente a eficácia de tecnologias de milho Bt com expressão de proteínas piramidadas, como Optimum Intrasect, PowerCore e YieldGard VT PRO, os quais também apresentaram danos severos de *S. frugiperda*, principalmente na 2ª safra. Mesmo a expressão de Cry2Ab2 em PowerCore e YieldGard VT PRO, a qual não compartilha sítios de ligação com proteínas Cry1, não é suficiente para matar *S. frugiperda* (Bernardi et al., 2015a; Santos-Amaya et al., 2015). Nessa safra, Agrisure Viptera e Agrisure Viptera 3 também dispensaram o uso de inseticidas.

Durante a 1ª safra 2015-16, todos os inseticidas testados para o controle de lagartas de *S. frugiperda* em milho Bt e não Bt apresentaram eficiência superior a 80% (Tabela 1); no entanto, houve variação significativa na eficiência no decorrer da 2ª safra (Tabela 2). A melhor performance dos inseticidas na 1ª safra provavelmente ocorre devido a baixa pressão populacional da praga, cuja densidade reduziu no período de inverno. Em contraste, devido ao cultivo de plantas hospedeiras após o inverno, houve um aumento na densidade populacional e, conseqüentemente das infestações e danos de *S. frugiperda* em milho Bt e não-Bt durante a 2ª safra. Nesta safra, o inseticida spinetoram foi aquele que, de modo geral, apresentou a melhor performance no controle de *S. frugiperda*, variando de 55 a 80% (Tabela 2). Esse inseticida teve similar eficácia para *S. frugiperda* em algodão não-Bt (Hardke et al., 2014). Isso se deve a elevada toxicidade dessa molécula para espécies de *Spodoptera*, seletividade a inimigos naturais e ação rápida no sistema nervoso (Huang et al., 2011; Belay et al., 2012). No entanto, vale ressaltar que, a resistência à inseticidas do grupo das spinosinas (Spinosad) já foi caracterizada em *S. frugiperda* no Brasil (Okuma, 2015).

Em resumo, nas próximas safras, o uso de milho Bt em associação com inseticidas será fundamental para o manejo de *S. frugiperda*; no entanto, é urgente o uso de estratégias de manejo da resistência, como adoção de áreas de refúgio e rotação de modos de ação, para preservar as proteínas Bt e os inseticidas que ainda são eficientes no manejo desta espécie.

## Conclusões

Os danos de *S. frugiperda* em milho expressando proteínas Cry foram severos, especialmente na 2ª safra, necessitando o uso de inseticidas para complementar o controle.

Os danos de *S. frugiperda* em milho expressando Vip3Aa20 foram insignificantes.

Todos os inseticidas testados foram eficientes no controle de *S. frugiperda* em milho Bt na 1ª safra, entretanto, na 2ª safra o inseticida spinetoram apresentou melhor performance.

### Agradecimentos

Ao CNPq, pelo apoio financeiro para execução da pesquisa e concessão da bolsa de estudo para o primeiro autor.

### Referências

ARANDA, E., SANCHEZ, J., PEFEROEN, M., GÜERECAL, L., BRAVO, A., 1996. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **J. Invertebr. Pathol.** 68, 203-212.

BARROS, E.M., TORRES, J.B., BUENO, A.F., 2010. Oviposition, development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. **Neotrop. Entomol.** 39, 996-1001.

BELAY D. K., HUCKABA, R. M., FOSTER J. Susceptibility of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae), at Santa Isabel, Puerto Rico, to Different insecticides. **Florida Entomologist**, n. 95, p. 476-478. 2012.

BERNARDI, D., SALMERON, E., HORIKOSHI, R.J., BERNARDI, O., DOURADO, P.M., CARVALHO, R.A., MARTINELLI, S, HEAD, G.P., OMOTO C., 2015a. Cross-Resistance between Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. **PLoS One** 10, e0140130.

BERNARDI, O., BERNARDI, D., RIBEIRO, R.S., OKUMA, D.M., SALMERON, E., FATORETTO, J., MEDEIRO, F.C.L., BURD, T., OMOTO, C., 2015b. Frequency of

resistance to Vip3Aa20 toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Crop Prot.** 76, 7-14.

BLANCO C. A., CHIARAVALLE, W., DALLA-RIZZA, M., FARIAS J.R., GARCÍA-DEGANO, M. F., GASTAMINZA, G., MOTA-SANCHEZ, D., MURUA, M. G., OMOTO C., PIERALISI B. K., RODRIGUEZ, J., RODRIGUEZ-MACIEL, J. C., TERAN-SANTOFIMIO, H., TERAN-VARGAS, A. P., VALENCIA, S. J, WILLINK, E. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. **Current Opinion in Insect Science**, n. 15, p. 131-138.2016.

CARRIÈRE, Y., CRICKMORE, N., TABASHNIK, B.E., 2015. Optimizing pyramided transgenics Bt crops for sustainable pest management. **Nat. Biotech.** 33, 161-168.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento – Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 12 Safra 2015/16 - Décimo Segundo levantamento, Brasília, p. 1-182, setembro 2016.

CRUZ, I., FIGUEIREDO, M., OLIVEIRA, A.C., VASCONCELOS, C.A., 1999. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **Int. J. Pest. Manag.** 45, 293-296.

CRUZ, I., FIGUEIREDO, M., SILVA, R.B., SILVA, I.F., PAULA, C.S., FOSTER, J.E., 2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in maize. **Int. J. Pest. Manag.** 58, 83-90.

DAVIS, F.M., NG, S.S., WILLIAMS, W.P., 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. **Miss. Agric. For. Exp. Stn. Res. Bull.** 9p (Technical Bulletin, 186).

DRIPPS, J. E., BOUCHER, R. E., CHLORIDIS, A., CLEVELAND, C.B., DEAMICIS, C. V., GOMEZ, L. E., PAROONAGIAN, D. L., PAVAN, L. A., SPARKS, T. C., WATSON, G. B., 2011. The spinosyns insecticides. **Green trends in insect control**, Chapter 5, p. 163-210.

FARIAS, J.R., ANDOW, D.A., HORIKOSHI, R.J., SORGATTO, R.J., FRESIA, P., SANTOS, A.C., OMOTO, C., 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Prot.** 64, 150-158.

HARDKE, J.T., JACKSON R.E, LEONARD B.R., 2014. Opportunities to manage fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on Bollgard II cotton with reduced rates of insecticides. **J. Cotton Sci.** 18, 59-67.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.S., HERNANDEZ-MARTÍNEZ, P., RIE, J.V., ESCRICHE, B., FERRÉ, J., 2013. Shared midgut binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important maize pests, *Ostrinia nubilalis* and *Spodoptera frugiperda*. **Plos One** 8, e68164.

HUANG, F., QURESHI, J.A., MEAGHER JR., R.L., REISIG, D.D., HEAD, G.P., ANDOW, D.A., NI, X., KERNS, D., BUNTIN, G.D., NIU, Y., YANG, F., DANGAL, V., 2014. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single gene versus pyramided Bt maize. **PLoS One** 9, e112958.

HUANG, X. P., DRIPPS, J. E., QUIÑONES, S., MIN, Y. K., TSAI, T., 2011. Spinetoram, a new spinosyn insecticide for managing diamondback moth and other insects pests of crucifers. **The sixth international workshop on management of the diamondback moth and other crucifer insect pests**, p. 222-228.

JAKKA, S.R., GONG, L., HASLER, J., BANERJEE, R., SHEETS, J.J., NARVA, K., BLANCO, C.A., JURAT-FUENTES, J.L., 2015. Field-evolved mode 1 resistance of the fall armyworm to transgenic Cry1Fa-expressing maize associated with reduced Cry1Fa toxin binding and midgut alkaline phosphatase expression. **Appl. Environ. Microbiol.** 82, 1023-1034.

MARTINELLI, S.; BARATA, R.M.; ZUCCHI, M.I.; SILVA-FILHO, M.C.; OMOTO, C. 2006. Characterization of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) population associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, p. 519-526,

MCGAUGHEY, W.H., WHALON, M.E., 1992. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Science** 258, 1451-1455.

MIRANDA, R., ZAMUDIO, F. Z., BRAVO, A., 2001. Processing of Cry1Ab delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* by *Manduca sexta* and *Spodoptera frugiperda* midgut proteases: role in protoxin activation and toxin inactivation. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 31, 1155-1163.

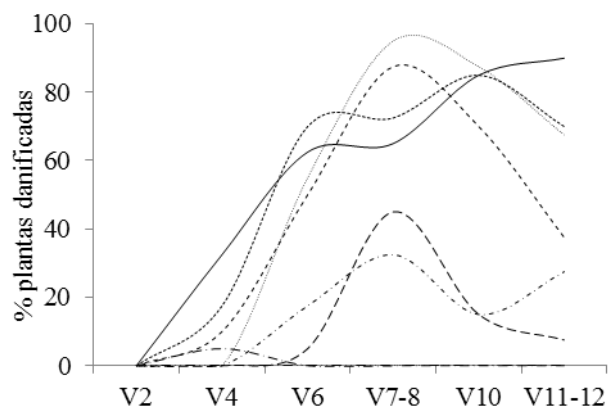
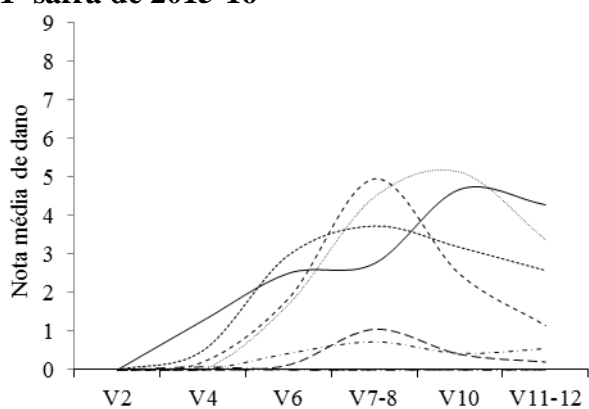
OMOTO, C., BERNARDI, O., SALMERON, E., SORGATTO, R.J., DOURADO, P.M., CRIVELLARI, A., CARVALHO, R.A., WILLSE, A., MARTINELLI, S., HEAD, G.P., 2016. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Manag. Sci.** 72, 1727-1736.

SANTOS-AMAYA, O. F., RODRIGUES, J.V.C., SOUZA, T.C., TAVARES, C.S., CAMPOS S.O., GUEDES R.N.C., PEREIRA, E.J.G., 2015. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance, and cross-resistance to other transgenic events. **Sci. Rep.** 5, 18243.

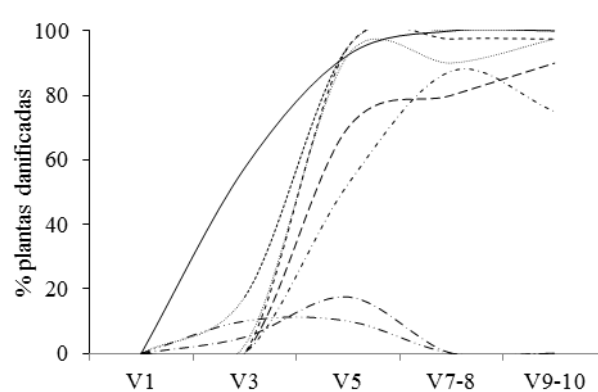
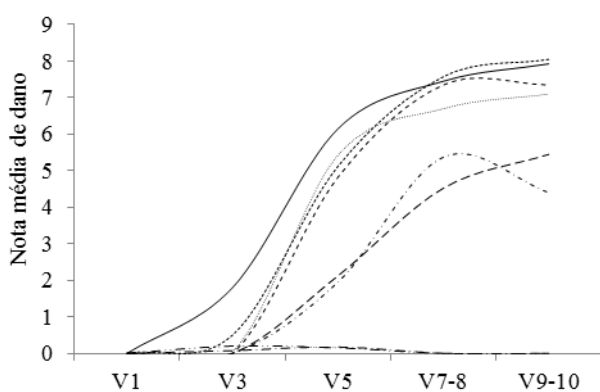
SAS Institute., 2002. Statistical Analysis System: Getting Started with the SAS Learning. SAS Institute, Cary, NC.

STORER, N.P., BABCOCK, J.M., SCHLENZ, M., MEADE, T., THOMPSON, G.D., BING, J.W., HUCKABA, R.M., 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **J. Econ. Entomol.** 103, 1031-1038.

### 1ª safra de 2015-16



### 2ª safra de 2015-16



— Não-Bt                      ..... Agrisure TL                      - - - - - Herculex                      - - - - - Optimum Intrasect  
 - - - - - YieldGard VT PRO      - - - - - PowerCore                      - - - - - Agrisure Viptera                      - - - - - Agrisure Viptera 3

**Figura 1.** Porcentagem de plantas danificadas e nota média de dano (Escala Davis) de *S. frugiperda* em milho Bt e não-Bt durante a 1ª e 2ª safra de 2015-16.

**Tabela 2.** Porcentagem de plantas de milho Bt e não-Bt danificadas por *S. frugiperda* e eficiência de controle de inseticidas na 1ª safra de 2015-16.

Milho	Inseticida	1ª pulverização		2ª pulverização		3ª pulverização		Eficiência média (%)
		% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	
Não-Bt	Testemunha	70.0 a	0.0	87.5 a	0.0	-	-	0.0
	Clorfenapir	70.0 a	96.0	25.0 b	73.5	-	-	84.8
	Clorpirifós + Diflubenzurom	77.5 a	100.0	32.5 b	100.0	-	-	100.0
	Spinetoram	65.0 a	100.0	17.5 b	64.7	-	-	82.4
Herculex	Testemunha	72.5 a	0.0	90.0 a	0.0	-	-	0.0
	Clorfenapir	77.5 a	96.4	55.0 ab	94.1	-	-	95.3
	Clorpirifós + Diflubenzurom	77.5 a	89.3	30.0 b	70.6	-	-	79.9
	Spinetoram	62.5 a	89.3	22.5 b	91.2	-	-	90.2
Optimum Intrasect	Testemunha	50.0 a	0.0	85.0 a	0.0	77.5	0.0	0.0
	Clorfenapir	47.5 a	61.8	32.5 b	88.6	-	-	75.2
	Clorpirifós + Diflubenzurom	50.0 a	79.4	17.5 b	74.3	47.5	75.0	76.2
	Spinetoram	52.5 a	82.4	15.0 b	80.0	-	-	81.2
Agrisure TL	Testemunha	55.0 a	0.0	62.5 a	0.0	82.5	0.0	0.0
	Clorfenapir	37.5 b	56.0	27.5 ab	73.7	-	-	64.8
	Clorpirifós + Diflubenzurom	47.5 b	76.0	15.0 b	55.3	57.5	77.1	69.5
	Spinetoram	47.5 b	72.0	17.5 b	97.4	-	-	84.7

<sup>a</sup>Médias na mesma coluna em cada milho Bt e seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (LSMEANS com ajuste de Tukey,  $P > 0,05$ ).

**Tabela 3.** Porcentagem de plantas danificadas de milho Bt e não-Bt por *S. frugiperda* e eficiência de controle dos inseticidas na 2ª safra de 2015-16.

Milho	Inseticida	1ª pulverização		2ª pulverização		3ª pulverização		4ª pulverização		Eficiência média (%)
		% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	% plantas danificadas <sup>a</sup>	Eficiência (%)	
<b>Não-Bt</b>	Testemunha	47.5 a	0.0	65.0 a	0.0	92.5 a	0.0	100.0 a	0.0	0.0
	Clorfenapir	32.5 a	65.2	32.5 a	40.5	55.0 a	30.8	60.0 b	56.4	48.2
	Clorpirifós + Diflubenzurom	45.0 a	82.6	35.0 a	13.5	80.0 a	38.5	40.0 c	46.2	45.2
	Spinetoram	40.0 a	82.6	37.5 a	73.0	25.0 b	76.9	12.5 d	87.2	79.9
<b>Herculex</b>	Testemunha	65.0 a	0.0	95.0 a	0.0	87.5 a	0.0	-	-	0.0
	Clorfenapir	57.5 a	23.7	72.5 a	54.3	40.0 b	67.5	-	-	48.5
	Clorpirifós + Diflubenzurom	60.0 a	10.5	85.0 a	45.7	47.5 b	45.0	-	-	33.7
	Spinetoram	60.0 a	71.1	27.5 b	71.4	25.0 b	85.0	-	-	75.8
<b>Optimum Intrasect</b>	Testemunha	45.0 a	0.0	95.0 a	0.0	92.5 a	0.0	-	-	0.0
	Clorfenapir	57.5 a	34.2	62.5 bc	37.8	57.5 ab	79.5	-	-	50.5
	Clorpirifós + Diflubenzurom	47.5 a	44.7	52.5 bc	48.6	47.5 b	48.7	-	-	47.4
	Spinetoram	60.0 a	78.9	20.0 d	75.7	22.5 b	94.9	-	-	83.2
<b>Agrisure TL</b>	Testemunha	72.5 a	0.0	92.5 a	0.0	95.0 a	0.0	-	-	0.0
	Clorfenapir	57.5 ab	18.9	75.0 ab	52.6	45.0 b	66.7	-	-	46.1
	Clorpirifós + Diflubenzurom	45.0 b	32.4	62.5 ab	47.4	50.0 b	8.3	-	-	29.4
	Spinetoram	45.0 b	59.5	37.5 b	68.4	30.0 b	80.6	-	-	69.5
<b>YieldGard VT PRO</b>	Testemunha	52.5 a	0.0	77.5 a	0.0	-	-	-	-	0.0
	Clorfenapir	52.5 a	35.5	50.0 ab	85.7	-	-	-	-	60.6
	Clorpirifós + Diflubenzurom	40.0 a	54.8	35.0 b	71.4	-	-	-	-	63.1
	Spinetoram	45.0 a	48.4	40.0 b	74.3	-	-	-	-	61.3
<b>PowerCore</b>	Testemunha	70.0 a	0.0	72.5 a	0.0	-	-	-	-	0.0
	Clorfenapir	65.0 a	51.7	35.0 a	62.5	-	-	-	-	57.1
	Clorpirifós + Diflubenzurom	42.5 a	37.9	45.0 a	62.5	-	-	-	-	50.2
	Spinetoram	57.5 a	55.2	32.5 a	56.3	-	-	-	-	55.7

<sup>a</sup>Médias na mesma coluna em cada milho Bt e seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (LSMEANS com ajuste de Tukey,  $P > 0,05$ ).



## 5 DISCUSSÃO

Um dos grandes desafios da agricultura, para a manutenção da sustentabilidade da atividade, é o controle de pragas, tendo em vista a grande proporção de perdas que elas podem causar às culturas. Nesse sentido, a combinação de conhecimentos e tecnologias é de fundamental importância para se obter eficiência.

A evolução da biotecnologia possibilitou a produção de plantas geneticamente modificadas, que induzem a produção de toxinas tóxicas para algumas espécies-praga, dentre elas a lagarta-do-cartucho do milho. A disponibilidade desta tecnologia foi extremamente importante, se tornando uma das principais táticas de controle em programas de Manejo Integrado de Pragas, reduzindo a utilização de inseticidas sobre as culturas, reduzindo custos e trazendo benefícios ambientais, uma vez que são altamente específicas. Entretanto, com o uso intensivo das plantas Bt, sem atender algumas estratégias para o manejo de resistência como o uso de áreas de refúgio, rotação de culturas e utilização de interação de métodos de controle, diversos casos de resistência de pragas vem sendo detectadas no mundo todo, pondo em risco esta ferramenta tão importante para grandes agroecossistemas.

Sendo assim, o trabalho realizado trouxe resultados de campo, demonstrando a atual situação de controle de *S. frugiperda* dos diferentes eventos Bt na cultura do milho e sua associação com inseticidas para complementar o controle, uma vez que algumas tecnologias estão apresentando falhas no controle da praga. Com os dois artigos que compõem a dissertação de mestrado, foram evidenciados alguns pontos chave, como a redução de eficiência de controle de milhos Bt expressando proteínas Cry1 (isoladas ou em pirâmide) e consequente necessidade de aplicação de inseticida para o efetivo controle de *S. frugiperda*, alta eficiência dos milhos expressando proteína Vip3Aa20, grande diferença de ataque de *S. frugiperda* à cultura do milho entre as duas épocas de semeadura, sendo bastante dificultado o manejo em semeaduras tardias, necessidade de monitoramento frequente, uma vez que depois que a lagarta se estabelece no “cartucho” da planta de milho, o acesso com o inseticida é dificultado

## 6 CONCLUSÕES

Os danos de *S. frugiperda* em milho expressando proteínas Cry1, tanto de forma isolada, quanto em piramidação são severos (acima de 55% de plantas atacadas), necessitando o uso de inseticidas para complementar o controle;

Tecnologias de milho expressando proteínas Cry1A.105/Cry2Ab2 são eficientes no controle de *S. frugiperda*, na 1ª safra;

Os danos de *S. frugiperda* em milho expressando Vip3Aa20 são insignificantes (<0,5%), dispensando aplicação de inseticidas;

Na 2ª safra, spinetoram em 1ª e 2ª pulverização; metomil + chlorantraniliprole (1ª pulverização) e indoxacarb (2ª pulverização); lambdacialotrina + lufenuron (1ª pulverização) e lambdacialotrina + chlorantraniliprole (2ª pulverização), foram os tratamentos mais eficientes no controle de *S. frugiperda*;

A infestação de *S. frugiperda* em semeadura tardia (2ª safra) é bastante acentuada, apresentando significativa diferença quando comparada à 1ª safra;

Os picos de infestação de *S. frugiperda* ocorreram de forma mais precoce na 2ª safra (entre os estádios V3 e V4), enquanto que na 1ª safra ocorrem entre V7 e V8.

## ANEXOS

### Anexo 1. Descrição dos estádios de desenvolvimento do milho.

---

#### **Estádios vegetativos**

VE - emergência

V1 - primeira folha expandida

V2 - segunda folha expandida

V3 - terceira folha expandida

V4 - quarta folha expandida

V5 - quinta folha expandida

V(n) - enésima folha expandida

VT - pendoamento

#### **Estádios reprodutivos**

R1 - espigamento (polinização)

R2 - grão em bolha

R3 - grão leitoso

R4 - grão pastoso

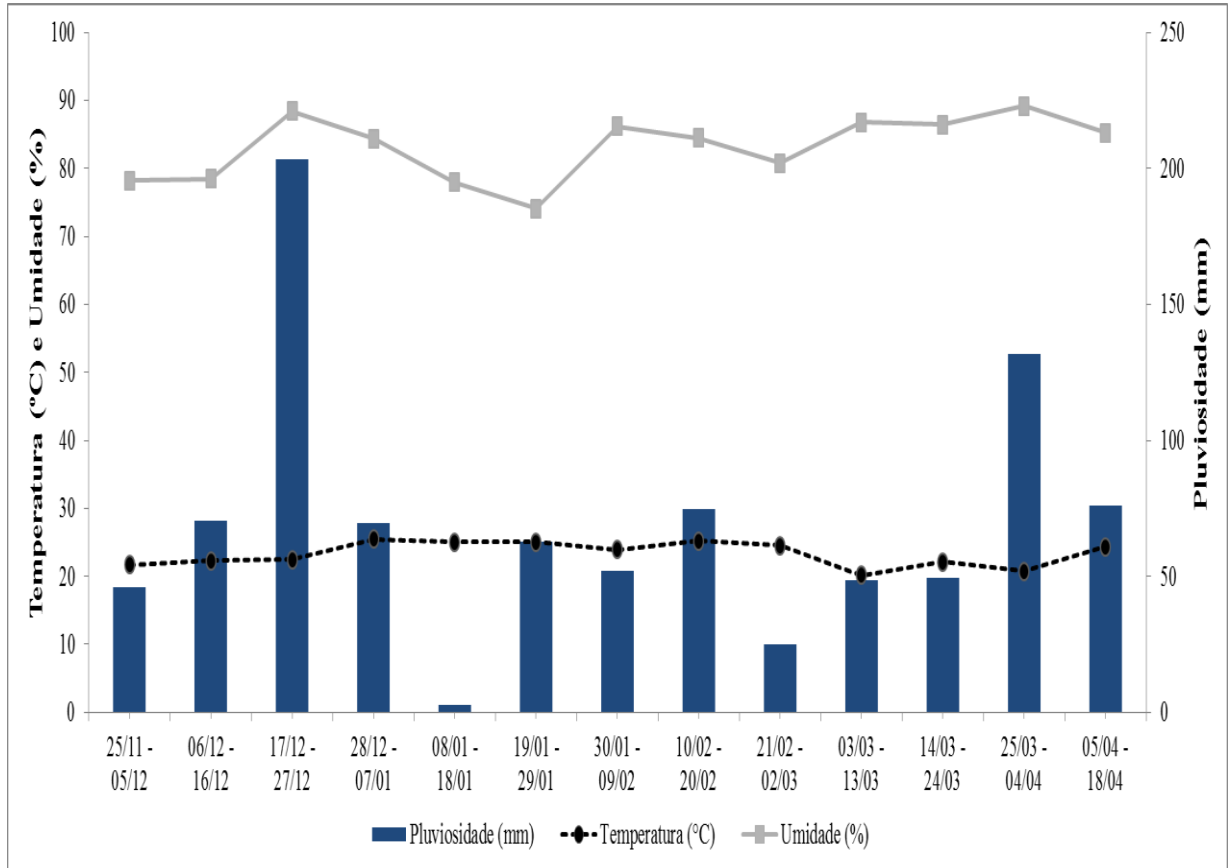
R5 - grão dentado

R6 - maturação fisiológica

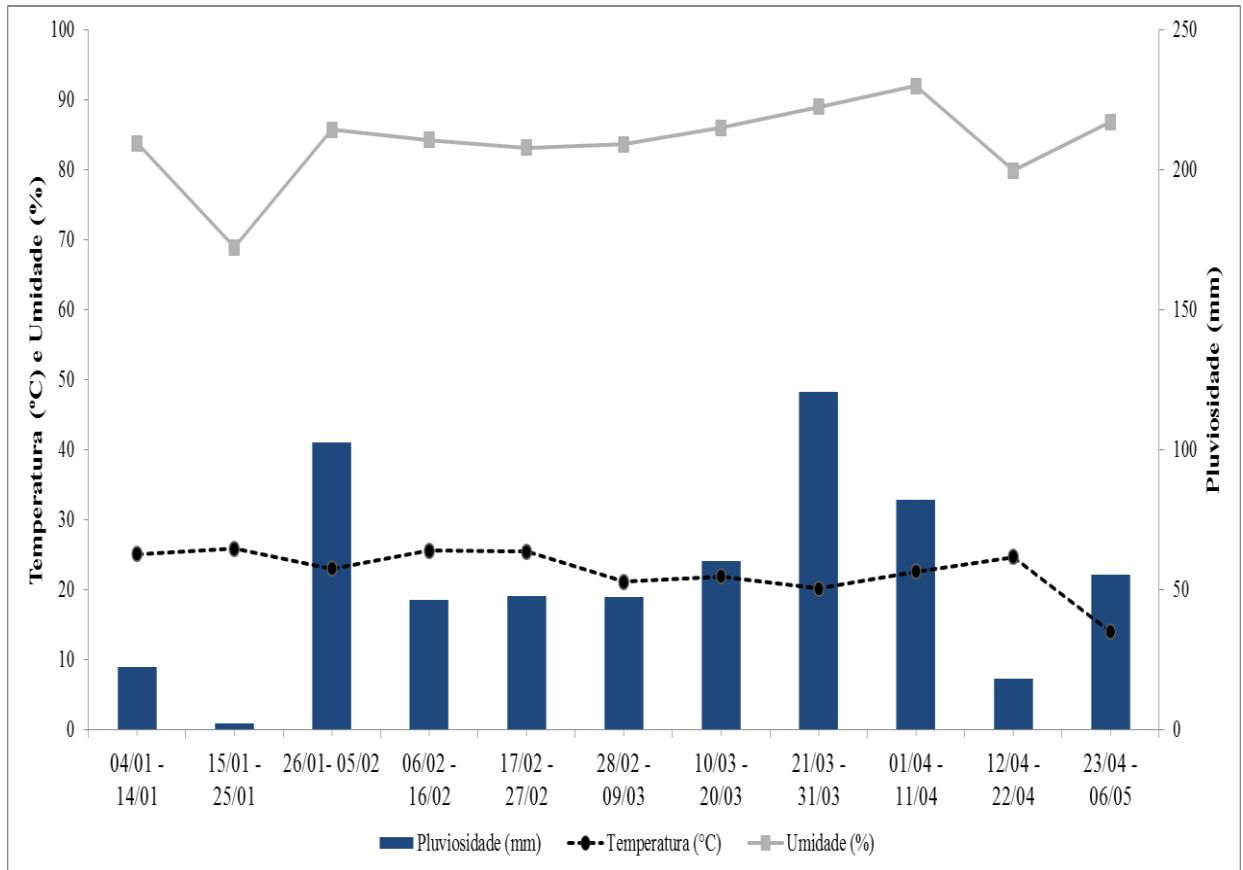
---

Fonte: RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. How a corn plant develops. Special Bulletin, Iowa, n. 48. 1993.

**Anexo 2.** Médias de temperatura (Celsius), Umidade Relativa do Ar (URar %) e pluviosidade acumulada (mm) a cada 10 dias no período de 25 de Novembro de 2015 a 18 de Abril de 2016, relativos ao período de desenvolvimento da primeira safra. Dados obtidos na Estação Meteorológica da UFSM. Santa Maria, RS.



**Anexo 3.** Médias de temperatura (Celsius), Umidade Relativa do Ar (URar %) e pluviosidade acumulada (mm) a cada 10 dias no período de 04 de Janeiro de 2016 a 06 de Maio de 2016, relativos ao período de desenvolvimento da segunda safra. Dados obtidos na Estação Meteorológica da UFSM. Santa Maria, RS.



**Anexo 4.** Escala de avaliação visual de danos de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho, adaptada de Davis, 1992. Fonte: Pioneer Sementes.

<b>BAIXO</b> Nível de dano	<b>MÉDIO</b> Nível de dano	<b>ALTO</b> Nível de dano
<p><b>1</b></p>  <p>De nenhum dano até 3 lesões muito pequenas nas folhas do cartucho.</p>	<p><b>4</b></p>  <p>De 4 a 7 lesões alongadas pequenas ou médias de 1,3 a 2,5 cm em algumas folhas do cartucho e folhas expandidas.</p>	<p><b>7</b></p>  <p>8 ou mais lesões alongadas de todos os tamanhos presentes em várias folhas do cartucho além de furos de formato uniforme a irregular nas folhas do cartucho e expandidas.</p>
<p><b>2</b></p>  <p>Lesões muito pequenas e pequenas circulares nas folhas do cartucho.</p>	<p><b>5</b></p>  <p>De 4 a 7 lesões alongadas grandes maiores que 2,5 cm de comprimento em algumas folhas do cartucho e folhas expandidas e/ou alguns furos pequenos a médios de formato uniforme a irregular (membrana consumida) no cartucho e nas folhas expandidas.</p>	<p><b>8</b></p>  <p>8 ou mais lesões alongadas de todos os tamanhos presentes na maioria das folhas do cartucho além de muitos furos médios a grandes de formato uniforme a irregular nas folhas do cartucho e expandidas.</p>
<p><b>3</b></p>  <p>Pequenas lesões circulares e algumas pequenas lesões alongadas (formato de retângulo) lesões de até 1,3 cm de comprimento nas folhas do cartucho.</p>	<p><b>6</b></p>  <p>De 4 a 7 lesões alongadas em várias folhas do cartucho e expandidas e/ou vários furos uniformes a irregulares nas folhas do cartucho e expandidas.</p>	<p><b>9</b></p>  <p>Cartucho e folhas expandidas quase ou totalmente destruídos.</p>

Escala Davis - Visual Rating Scales for Screening Whorl-Stage Corn for Resistance to Fall Armyworm, F. M. Davis, USDA-ARS, Crop Science Research Laboratory, Mississippi State University, MS 39762.

**Anexo 5.** Danos de *Spodoptera frugiperda* em tecnologias de milho Bt e não-Bt sem pulverização de inseticidas. Santa Maria-RS, 2015/16.



**Milho não-Bt**



**Agrisure TL**



**Herculex**



**Optimum Intrasect**



**YieldGard VT PRO**



**PowerCore**



**Agrisure Viptera**



**Agrisure Viptera 3**