

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

MILHO DOCE BT COMO FERRAMENTA PARA O MANEJO
DE LEPIDÓPTEROS PRAGA NO CENTRO-OESTE
BRASILEIRO

Autor: Altair Marcos Schneider
Orientador: Dr. Lessando Gontijo
Co-orientadora: Dra. Lilian Lucia Costa

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE
EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos – Área de
Concentração Agronomia.

Morrinhos - Go
abril - 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

S358m Schneider, Altair Marcos.

Milho doce BT como ferramenta para o manejo de lepidópteros praga no Centro-Oeste Brasileiro / Altair Marcos Schneider. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2016.
58 f. : il. color.

Orientador: Dr. Lessandro Moreira Gontijo.
Co-orientadora: Dra. Lílian Lúcia Costa.

Trabalho de conclusão de curso (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2016.

1. *Spodoptera frugiperda*. 2. *Helicoverpa*. 3. Cry 1A105.
I. Gontijo, Lessandro Moreira. II. Instituto Federal Goiano.
Mestrado Profissional em Olericultura. III. Título

CDU 633.15(043.3)

AGRADECIMENTOS

À família, que sempre esteve ao meu lado, especialmente a minha esposa Giseli que sempre me apoiou nos momentos difíceis.

Ao Dr. Lessando Gontijo pela orientação, confiança, ensino e enorme disposição.

Aos meus amigos pela contribuição neste trabalho, em especial ao Dr. Fabrício Francischini e Wilmar Morjan pelo apoio.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Olericultura.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos e ao programa de pós-graduação, pela oportunidade de ter ingressado no Curso de Pós-Graduação em Olericultura.

A FAPEG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Goiás) pela bolsa de mestrado que foi de grande importância para realização deste trabalho.

E a todos que de forma direta e indireta me ajudaram a concluir este trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Altair Marcos Schneider nasceu em 18 de Abril de 1980 em Chapecó – Santa Catarina. É Engenheiro Agrônomo, Pós-graduado em Gestão de Agribusiness, atualmente é Technology Development Representative na empresa Monsanto do Brasil Ltda desde o ano de 2007. Reside em Morrinhos desde 2011.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIATURAS E UNIDADES	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO I	1
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Características do milho doce	1
1.2 Importância do milho doce	2
1.3 Ocorrência e importância das pragas chave	4
1.4 Uso da tecnologia BT para controle de lepidópteros praga no Brasil	8
2. OBEJTIVO	13
CAPÍTULO II	14
ABSTRACT	14
RESUMO	15
1. INTRODUÇÃO	16
2. MATERIAIS E MÉTODOS	18
3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÕES	34
6. CONCLUSÕES	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Inseticidas, doses e respectivos estádios de aplicação dos tratamentos com inseticida nas duas épocas do experimento	20
Tabela 2. Descrição das notas da escala Davis et al. (1992)	21
Tabela 3. Resultados das análises estatísticas para os principais efeitos e suas interações	26
Tabela 4. Dados médios de peso das espigas da parcela peso da espiga sem palha em gramas (PESP), diâmetro da espiga em cm (DE), comprimento da espiga em cm (CE), peso do ráquis (sabugo) em gramas (PR) e rendimento de grãos em gramas (RG), na colheita do milho doce. Morrinhos – GO. 2015	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO II	
Figura 1: Croqui experimental das duas épocas de semeadura, Convencional sem inseticidas (CS), Convencional com inseticidas (CC), BT sem inseticidas (BS) e BT com inseticidas (BC). Morrinhos, GO, 2015	19
Figura 2: Parcela experimental do milho doce BT sem inseticida em V10 com a desmotração das respectivas seis linhas. Morrinhos, GO, 2015	22
Figura 3: Identificação de espécie de lagarta atacando a espiga (<i>Helicoverpa</i> sp neste caso) (foto A), e tabela quadriculada transparente (foto B) sobre a área consumida pelas lagartas para a contagem de injúria nos grãos e no sabugo do milho doce no estágio R3. Morrinhos, GO, 2015	23
Figura 4: Média de notas da escala Davis et al. (1992) nos estádios fenológico do milho doce de V4 a V10 da primeira época. Morrinhos, GO, 2015	27
Figura 5: Média de notas da escala Davis et al. (1992) nos estádios fenológico do milho doce de V4 a V10 da segunda época de semeadura. Morrinhos, GO, 2015	27
Figura 6: Valores médios da injúria causada nos grãos e nos sabugos do milho doce na primeira época (Colunas seguidas pelas mesmas letras maiúsculas/minúsculas (para cada parâmetro) não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de média Tukey). Morrinhos, GO, 2015	28
Figura 7: Valores médios da injúria causada nos grãos e nos sabugos do milho doce na segunda época (Colunas seguidas pelas mesmas letras maiúsculas/minúsculas (para cada parâmetro) não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de média Tukey). Morrinhos, GO, 2015	29
Figura 8: Lagartas de <i>Helicoverpa</i> spp coletadas em uma parcela de milho doce convencional com inseticida. Morrinhos, GO, 2015	29
Figura 9: Dano de lepidópteros nas espigas de milho doce convencional sem inseticida e BT sem inseticida. Morrinhos, GO, 2015	30
Figura 10: Quantidade de <i>Helicoverpa</i> spp e <i>S. frugiperda</i> encontradas nas espigas do milho doce por parcela avaliada nas duas épocas de semeadura (Dentro de cada fator médio, nas colunas, seguidas da mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de média Tukey). Morrinhos, GO, 2015	31
Figura 11: Precipitação acumulada em milímetros e temperatura média em graus célcus da 47ª semana de 2014 a 12ª semana de 2015 e os respectivos estádios fenológicos do milho doce nas duas épocas de semeadura. Dados da estação automática modelo Davis Vantage Pro2. Morrinhos, GO, 2015	31

Figura 12: Gotículas de água no estilo estigma da espiga do milho doce, demonstrando a baixa dispersão das gotas. Morrinhos, GO, 2015

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIATURAS E UNIDADES

Símbolo ou sigla	Significado	Unidade
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	
BT	Milho com Gene BT	
CTNbio	Comissão Técnica Nacional de Biosegurança	
PECP	Peso espiga com palha	g
PESP	Peso espiga sem palha	g
DE	Diâmetro da espiga	cm
CE	Comprimento da espiga	cm
PR	Peso Ráquis	g
RG	Rendimento de Grão	g

RESUMO

SCHNEIDER, ALTAIR MARCOS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos-GO. Abril de 2016. **Milho doce BT como ferramenta para o manejo de lepidópteros praga no centro-oeste brasileiro.** Orientador: Lessando Moreira Gontijo, Co-orientadora: Lilian Lucia Costa.

O milho doce (*Zea mays* L. g. *saccharata*) possui mais açúcar que o milho comum. O manejo de lepidópteros no milho convencional tem sido conduzido principalmente pela aplicação de inseticidas e uso de cultivares transgênicas. Já para o milho doce, há uma carência de informações com relação ao uso de transgênicos para o combate destas pragas. Desta forma, o presente trabalho de dissertação teve como objetivo avaliar a eficiência do milho doce transgênico BT no manejo de lepidópteros. O estudo foi realizado em épocas distintas. Os experimentos seguiram um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: I – convencional com inseticida; II – convencional sem inseticida; III – BT com inseticida; IV – BT sem inseticida. Os tratamentos com inseticidas receberam sete aplicações seguindo recomendações técnicas da indústria de milho doce. Os resultados mostraram uma menor evolução da injúria nas folhas (causadas por lagartas) nos tratamentos com milho BT. Similarmente, foi observado uma injúria significativamente menor nas espigas (sabugo e grãos) das plantas BT, independente da aplicação de inseticidas. O número de lagartas (*S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp.) foi também menor nos tratamentos com milho transgênico. Em geral, também foi observado maiores espigas e maior rendimento de grãos nos tratamentos com milho BT. Por fim, o estudo mostra que o milho doce BT pode ser uma boa ferramenta adicional a ser utilizada no manejo integrado de pragas do milho, visando principalmente o controle de lagartas como *S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp.

Palavras-Chave: *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa*, Cry1A105, Cry2Ab2, injúria na espiga.

ABSTRACT

SCHNEIDER, ALTAIR MARCOS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos-GO. Abril de 2016. **Sweet corn BT as a tool to lepidoptera pest management in the midwest brazilian.** Orientador: Lessando Moreira Gontijo, Co-orientadora: Lilian Lucia Costa.

Sweet corn (*Zea mays* L. saccharata group) is known to have more sugar than conventional corn cultivars. The management of Lepidoptera in conventional maize has happened mainly by the application of insecticides and use of transgenic cultivars. However, in Brazil there is still very little information regarding the use of BT sweet corn to manage these pests. Thus, the present dissertation study proposed to evaluate the efficiency of BT sweet corn against lepidopteran pests. Two experiments were conducted at two different time periods. The experiments followed a randomized block design with four treatments and six replications in each experiment. The treatments are as follow: I - conventional plus insecticide; II - conventional without insecticide; III - BT plus insecticide; and IV - BT without insecticide. The treatments with insecticides were sprayed seven times following technical recommendations from the sweet corn industry personnel. The results showed a slower evolution of injury on the corn leaves (caused by caterpillars) in treatments with BT corn. Likewise, a significantly lower injury was observed in the ears (cobs and kernels) of BT plants, regardless of insecticide application. The number of caterpillars (*S. frugiperda* and *Helicoverpa* spp.) was also lower in the treatments with BT corn. In general, it was also observed larger ears and higher grain yield in treatments with BT corn. In summary, the study shows that BT sweet corn can be an important additional tool to be used in the integrated pest management programs of sweet corn pests, mainly targeting the control of *S. frugiperda* and *Helicoverpa* spp.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa*, Cry1A105, Cry2Ab2, corn ear injury.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

1.1 Características do milho doce

O milho doce (*Zea mays* L. grupo *saccharata*) pertence à família Poaceae e ao gênero *Zea*, originado na América, provavelmente na região do México e foi domesticado em um período entre 7.000 – 10.000 anos atrás.

Existem cerca de 300 variedades de milho, caracterizadas pelas mais diferentes adaptações, sendo estas, tanto para o consumo alimentar como para as diversas condições climáticas. A botânica e a reprodução do milho doce são idênticas as do milho comum (Aragão 2002), sendo sua cultura definida como anual. A propagação é feita por sementes e a semeadura é feita diretamente no campo, da mesma forma que o milho comum, a única diferença é que as sementes de milho doce geralmente têm menor vigor devido ao baixo teor de carboidratos (Kurozauwa 2007).

A maior quantidade de açúcar do milho doce é um caráter genético recessivo e possui pelo menos um dos oito genes mutantes que afetam a biossíntese de carboidratos no endosperma, sendo os principais: *shrunk-2* (*sh2*) no cromossomo 3; *brittle* (*bt*) no cromossomo 5; *sugary enhancer* (*se*), *sugary* (*su*) e *Brittle-2* (*bt2*), estes últimos três no cromossomo 4. Existem ainda, o *dull* (*du*), no cromossomo 10, *waxy* (*wx*) no cromossomo 9; e *amilose extender* (*ae*) no cromossomo 5. Estes genes podem atuar de forma simples ou em combinações duplas ou triplas. Além disso, existem outras características indesejáveis, como baixa resistência ao ataque de pragas e doenças (por causa do maior teor de açúcares) e a baixa produtividade quando comparado ao milho comum (Oliveira Junior et al. 2006). O elevado teor de açúcares do milho doce inviabiliza o processamento de alguns pratos, como o cural e a pamonha, por causa do teor de amido (Pereira et al. 2003).

Em termos de qualidade, enquanto o milho comum apresenta entre 3% de açúcar e 60% a 65% de amido, o milho doce tem entre 9% e 14% de açúcar, e 30% a 35% de amido, o que lhe confere maior aptidão para consumo humano (Gama et. al 2003).

A planta do milho doce atinge em média 1,50m - 2,50m de altura, tendo um caule ereto, cilíndrico, fibroso, com presença de nós e entrenós, e parcialmente recoberto pela bainha de algumas folhas. As folhas são de cor verde-escura a verde-clara, flexíveis e tem uma nervura central branca, lisa e bem visível. A planta produz flor masculina (flecha ou pendão) na sua parte mais alta, onde produz os grãos de pólen, e a flor feminina (espiga) à meia altura. Cada estilo estigma (cabelo) que sai da espiga é responsável pela produção de um grão, depois de fecundada pelo grão de pólen. As plantas podem alcançar maior produtividade durante as épocas de alta temperatura e com boa disponibilidade de água (Kurozawa 2014). A colheita de espigas é feita quando os grãos estão em estado leitoso entre R3 e R4, que é após os grãos já estarem formados, aproximadamente de 100 a 125 dias após a semeadura. Os grãos maduros e secos ficam totalmente enrugados, devido ao seu baixo teor de amido na composição (Kurozawa 2014).

1.2 Importância do milho doce

O milho doce é classificado como especial e destina-se exclusivamente ao consumo humano. É utilizado principalmente como “milho verde”, tanto “*in natura*” como para processamento industrial (enlatados) (Oliveira Junior et al. 2006). Este cereal é muito popular nos Estados Unidos e no Canadá. Nesses países, o milho doce é tradicionalmente consumido “*in natura*” (Bordallo et al. 2005).

Atualmente, a área mundial cultivada é de 900 mil hectares (USDA 2015). No Brasil cultivam-se 36 mil hectares, onde praticamente 100% da produção é destinada ao processamento industrial. A produção concentra-se nos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, São Paulo, Distrito Federal, Goiás e Pernambuco (Barbieri et al., 2005). Na região Nordeste, este produto, principalmente na forma de espiga, possui alta importância econômica devido ao expressivo consumo regional e a utilização como matéria prima de muitos pratos da culinária local (Pedrotti et al. 2003).

Nas regiões sudeste, centro oeste, nordeste e norte a exploração da cultura é realizada durante todo o ano, utilizando-se irrigação e o escalonamento da produção, permitindo um fluxo constante do produto para a comercialização (Teixeira et al. 2001). Este seguimento tem crescido nos últimos anos e a tendência é a manutenção deste crescimento, visando principalmente a exportação (Barbieri et al. 2005).

O Brasil, como um grande produtor de milho comum, apresenta grande potencial para a produção de milho doce, mas também existe um grande número de pragas adaptadas a esta cultura (Teixeira et al. 2001).

Alguns pesquisadores acreditam que em algum tempo, o milho doce se tornará uma importante cultura olerícola no Brasil, podendo ser uma alternativa agrônômica rentável para pequenos e médios produtores (Araujo et al. 2006).

No Brasil, está ocorrendo há alguns anos o crescimento do mercado de milho doce para a indústria de enlatamento de milho verde e maior preocupação com a qualidade do produto final (Aragão et al. 2003, IBGE 2014). Algumas empresas privadas e governamentais vêm desenvolvendo programas de melhoramento para produção de cultivares de milho doce adaptadas ao clima de cada região (Scapim et al. 1995), que apresentem endosperma com conversão reduzida de açúcar em amido, característica que é muito desejável para o milho doce enlatado (Gama et al. 1983; Fornasieri Filho 1992).

O milho é o cereal que apresenta maior número de produtos industrializados, devido ao alto teor de carboidratos, proteínas, lipídeos e vitaminas (Aragão 2002). O milho doce pode ser utilizado em conserva, congelado na forma de espigas ou grãos, desidratado, colhido antes da polinização e usado como minimilho e ainda, após a colheita, o material vegetal pode ser utilizado para ensilagem (Pedrotti et al. 2003). Para os produtores de olerícolas pode ser uma importante fonte de renda em virtude do alto preço unitário das espigas e do aproveitamento da parte vegetativa que pode ser usada como feno ou silagem de alta qualidade para ruminantes (Storck et al. 1984).

A colheita deve ser realizada quando as espigas alcançarem 70% a 80% de umidade e nas primeiras horas da manhã. Neste horário a umidade do ar é alta e a temperatura é menor em relação ao restante do dia, o que permite uma maior conservação das espigas. Umidades acima desta podem provocar perdas no rendimento industrial, resultante do elevado número de espigas no estágio “cristal” ou “bolha d’água” (quando os grãos ainda têm muita água e pouca massa seca), o qual a indústria

de conserva permite até 8% do total, sendo que acima dessa porcentagem o produto final ficará depreciado (Cruz e Pereira Filho 2002).

Os produtores de milho doce vêm utilizando alta tecnologia, assim como sua utilização pela indústria, o que requer cultivares que além de produtivas sejam uniformes quanto à maturação, tamanho, forma das espigas e sem danos de pragas ou presença de larvas. As características requeridas para a industrialização do milho doce são: (i) uniformidade na altura das plantas e espigas, a qual pode ser conseguida pelo emprego de híbridos simples, (ii) uniformidade no teor de umidade dos grãos, que auxilia na manutenção do sabor e na palatabilidade, (iii) alta produção de grãos por espiga e (iv) textura do grão uniforme e com pericarpo fino (Tosello 1978). A indústria tem preferência por espigas maiores, em torno de 20 cm de comprimento e grãos longos devido à maior eficiência das máquinas degranadoras para retirar grãos inteiros (Pereira Filho, Cruz e Gama 2003). Em relação ao consumidor, as características mais exigidas são a coloração amarelo-alaranjada e o pericarpo fino, contribuindo para maior maciez dos grãos (Teixeira et al. 2001).

1.3 Ocorrência e importância das pragas chave

Dentre as principais pragas que atacam a cultura do milho doce destacam-se as lagartas da ordem Lepidoptera, que destroem folhas e grãos das plantas. Na cultura do milho, os gastos com inseticidas representam em média 15% do custo operacional efetivo (Cruz et al. 2012). Segundo a Cruz et al. (2012), algumas pragas que atacam as espigas do milho doce causam perdas significativas durante o cultivo e a pós-colheita. Entre as principais estão a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*), a mosca (*Euxesta* sp) a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e mais recentemente a *Helicoverpa armigera*. Os danos incluem: (i) a desfolha e a diminuição da área fotossintética, (ii) o consumo dos estilo-estigmas (reduzindo a polinização e fecundação), (iii) ausência de grãos na ponta da espiga devido ao ataque da larva, (iv) destruição dos grãos em desenvolvimento, (v) aumento da vulnerabilidade da espiga a patógenos e (vi) redução da qualidade dos grãos que pode levar a recusa da indústria devido ao risco de larvas serem enlatadas junto com o produto final.

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) é considerada a praga-chave da cultura em condições de campo, causando danos em praticamente toda

a fase vegetativa e reprodutiva do milho, podendo comprometer toda a produção. Trabalhos de revisão bibliográfica envolvendo os diversos aspectos da lagarta-do-cartucho foram realizados por Andrews (1988), Ashley et.al (1989) e Insenhour & Davis (1999). Wiseman et. al (1999) consideram *S. frugiperda* como a mais importante praga do milho nas Américas e a que apresenta ampla distribuição geográfica.

No Brasil, Leiderman & Sauer (1953) já destacavam a *S. frugiperda* entre as principais pragas da cultura do milho, considerando-a extremamente polífaga e com vários hospedeiros. Além do milho pode atacar a alfafa, batata-doce, cana-de-açúcar algodão, amendoim, arroz, aveia, batata, hortaliças, trigo e soja. No entanto, sendo mais encontrada atacando gramíneas. Segundo levantamento desses autores, já na década de 1920, eram relatados em diversos estados brasileiros danos severos provocados por essa lagarta, também conhecida como “lagarta-dos-milharais”, “lagarta-militar” ou ainda “curuquerê-do-milho”. Esta praga é encontrada em praticamente todos os estados brasileiros, favorecida pelas condições climáticas e pela disponibilidade e diversificação de plantas hospedeiras o ano todo (Cruz 2012).

As plantas de milho são suscetíveis em praticamente todas as fases de desenvolvimento, ficando prejudicadas pela destruição do cartucho e redução da área fotossintética, comprometendo assim a produção. A *S. frugiperda* pode ainda atacar a base da espiga, destruindo grãos e favorecendo a penetração de microorganismos, o que poderia causar a queda da espiga (Cruz 2012).

O impacto de *S. frugiperda* na produção de milho é estudada há muitos anos por Carvalho (1970) que, trabalhando com diversos genótipos, estimou uma redução na produtividade entre 15% e 34%, dependendo da fase de desenvolvimento da planta, sendo que, aos 49 dias após o plantio observou redução de 30%.

Outro estudo na década de 1980, Cruz & Turpin (1982) avaliaram os danos da praga em diferentes estádios de desenvolvimento e concluíram que o estágio mais suscetível à *S. frugiperda* foi o de 8 a 10 folhas, ou seja, em torno de 40 dias após o plantio. Estudos mais recentes usando infestações artificiais de plantas no estágio de 8 - 10 folhas obtiveram redução de produtividade de 20% a 100%, concluindo que a redução no rendimento foi diretamente proporcional aos danos e que o potencial de redução do rendimento pode ser mensurado na fase de cartucho.

A lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada a praga que causa mais prejuízos nas grandes culturas da América do Norte (Capinera 2014). A fêmea de *H. zea* faz suas posturas isoladas e

preferencialmente à noite. Os ovos são de cor amarelo-creme no início e após algum tempo tornam-se cinza esverdeados. Uma fêmea oviposita entre 500 e 3.000 ovos durante três ou quatro dias. Após a eclosão as larvas procuram normalmente as regiões reprodutivas das plantas (espigas).

Na fase inicial do desenvolvimento elas convivem bem entre si e se toleram na mesma parte da planta, porém com o seu crescimento elas tornam-se mais agressivas e podem adotar o comportamento canibalista, restando normalmente uma única lagarta por estrutura (Chilcutt 1996). De forma geral *H. zea*, apresenta seis instares larvais, porém cinco instares não é anormal e sete já foi também reportado (Capinera 2014).

Helicoverpa zea já foi relatada prejudicando a cultura do milho doce de três formas: (i) atacando os estigmas (impedindo a fecundação); (ii) alimentando-se de grãos leitosos; e (iii) os orifícios deixados pelas lagartas nas espigas facilitam a penetração de microrganismos e insetos como Coleopteros e Dípteros (Gassen 1996). *Helicoverpa zea* é um inseto polífago, incluindo como hospedeiros além do milho, outras gramíneas, solanáceas, leguminosas, frutíferas e hortaliças, o que dificulta a implantação de um programa de manejo integrado do inseto (Gassen 1996).

O controle de *H. zea* com o emprego de inseticidas tem sua eficiência baixa (Viana e Costa 1994), isto se deve ao fato das lagartas, encontrarem-se protegidas no interior das espigas. Além disso, provoca um efeito negativo no equilíbrio biológico existente entre o inseto-praga e seus inimigos naturais, pois muitos inseticidas empregados nestas aplicações não são seletivos, e o mau uso dos químicos pode também selecionar populações resistentes (Cruz 2002). A biotecnologia vem sendo empregada para melhorar este controle, com algumas proteínas transgênicas registradas para o controle desta praga (Cruz et al. 2012).

A lagarta *Helicoverpa armigera* também pode ser inserida na lista de pragas importantes para o milho, já que era uma praga quarentenária até pouco tempo (Czepak et al. 2013). Esta praga foi identificada atacando os órgãos reprodutivos das plantas, assim como a *H. zea* (Czepak et al. 2013). Em se tratando de milho doce, a injúria pode ser significativa já que deprecia o valor final do produto, que é a espiga.

Helicoverpa armigera apresenta ampla distribuição geográfica pelo mundo, sendo registrada na África, Austrália, Europa, Ásia, e Oceania (Guo 1997). Nas Américas, essa praga não havia sido detectada até 2013, quando sua ocorrência foi registrada em várias regiões agrícolas do Brasil (Czepak et al. 2013).

A *H. armigera* é considerada uma espécie altamente polífaga, suas larvas têm sido observadas se alimentando em mais de 100 espécies de plantas, sejam elas domesticadas ou não, compreendendo cerca de 45 famílias, incluindo Malvaceae, Asteraceae, Fabaceae, Poaceae e Solanaceae (Pogue 2004). No Brasil, as lagartas de *H. armigera* já foram constatadas se alimentando de várias culturas de importância econômica, tais como tomate, feijão, algodão, soja, milho, sorgo, milho, sorgo, milho, milho, guandu, trigo e crotalária, bem como em algumas espécies de plantas daninhas (Czepak et al. 2013).

As lagartas de *H. armigera* podem se alimentar tanto dos órgãos vegetativos como reprodutivos de várias espécies de plantas de importância econômica. Estima-se que a perda mundial causada por lagartas de *H. armigera*, nas diferentes culturas em que ataca, chega anualmente a 5 bilhões de dólares e um custo anual de aplicação de inseticidas na ordem de 500 milhões de dólares (Lammers e Macleod 2007). O tipo de injúria provocado *H. armigera* e *H. zea* em milho não pode ser distinguido até o momento (Czepak et al. 2013).

As fêmeas de *H. armigera* realizam a oviposição normalmente durante o período noturno e colocam seus ovos de forma isolada ou em pequenos agrupamentos preferencialmente na face adaxial das folhas ou sobre os talos, flores, frutos e brotações terminais com superfícies pubescentes (Mensah 1996). O período larval de *H. armigera* é completado com o desenvolvimento de seis distintos ínstares. Os primeiros ínstares larvais, que apresentam coloração variando de branco-amarelada a marrom-avermelhada e cápsula cefálica entre marrom-escuro a preto, alimentam-se inicialmente das partes mais tenras das plantas, onde podem produzir um tipo de teia ou até mesmo formar um pequeno casulo. Este seria o momento adequado para o controle químico da praga, pois é quando as lagartas estão mais expostas e também mais suscetíveis ao contato dos produtos químicos aplicados em pulverização (Czepak et al. 2013). A medida que as larvas crescem sua coloração vai do amarelo-palha ao verde, apresentando listras de coloração marrom lateralmente no tórax, abdômen e na cabeça, podendo o tipo de alimentação utilizado pela lagarta influenciar na sua coloração (Ali e Choudhury 2009).

Dentre os fatores que contribuem para a manutenção da produção do milho comum e milho doce, podemos destacar o manejo integrado de pragas (MIP), que consiste em avaliar o ecossistema e as condições sociofísicas da propriedade, integrar diferentes táticas de controle desde o preparo do solo e tomar decisões de iniciar o controle químico e/ou biológico baseado em planos de amostragem.

Várias são as alternativas de controle desta praga e entre elas podemos destacar o cultivo de milho transgênico com o gene BT e a utilização de inseticidas específicos, porém muitos destes métodos ainda estão sendo testados (Czepak et al. 2013).

Para a agricultura de larga escala o controle químico ainda é muito utilizado. A indústria de milho doce enlatado tem relatado entre 7 e 10 aplicações de inseticidas para o controle da *S. frugiperda* e a *H. armigera* (Paulo Felici, *Comunicação Pessoal* 2015). Os técnicos da empresa ‘dez alimentos’ têm observado um significativo aumento no número de pulverizações com inseticidas para o efetivo controle destas pragas (Paulo Felici, *Comunicação Pessoal* 2015).

Segundo Angelo et al. (2010) o controle das populações de insetos no milho é realizado, principalmente, por inseticidas químicos, cujo uso descontrolado e massivo pode causar sérios danos ambientais e a saúde humana. Defensivos químicos com alta toxicidade, e com alto efeito residual e baixa especificidade, prejudicam o meio ambiente além de contribuir para a existência de considerável número de espécies de insetos com populações resistentes, inviabilizando a aplicação de tais produtos.

1.4 Uso da tecnologia BT para controle de lepidópteros praga no Brasil

O *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma bactéria Gram positiva, que pode ser caracterizada pela sua capacidade de formar cristais protéicos durante a fase de esporulação. O *Bt* ocorre naturalmente em diversos habitats incluindo matéria vegetal, solo, filoplano, água, resíduos de grãos, e insetos. O cristal protéico também chamado de *delta endotoxinas*, possui propriedades inseticidas específicas. Os cristais bipiramidais apresentam uma maior frequência de toxicidade do que os outros tipos, e a maioria dos isolados que possuem alguma atividade contra os lepidópteros possuem este tipo de cristal (Tyrell et al. 1981).

O controle biológico é uma alternativa para o controle químico das pragas do milho, que pode ser feito com o uso racional de entomopatógenos, que constituem os componentes ativos dos bioinseticidas ou inseticidas biológicos. Entre as vantagens dos bioinseticidas a base de *Bt*, destacam-se: menor risco ambiental e à saúde humana, alta especificidade, menor frequência de resistência nos insetos alvo e a possibilidade do entomopatógeno se multiplicar no ambiente e, com isso, aumentar sua permanência. Como desvantagem principal destaca-se maior suscetibilidade às condições ambientais

e a necessidade de reaplicação constante em ambientes de alta infestação da praga (Angelo et al. 2010).

Segundo Greenwood (2014), a biotecnologia é uma ciência aplicada que integra conhecimentos das ciências naturais e de engenharia para o processamento de materiais e substâncias através de agentes biológicos gerando produtos e serviços úteis ao homem. Segundo o International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA) em 2014 a adoção de organismos geneticamente modificados (OGMs) continuou crescendo pelo décimo nono ano consecutivo, em um total de 18 milhões de agricultores em 28 países que plantam mais de 181 milhões de hectares de terras com OGMs.

Segundo Mendes (2012) a utilização de plantas transgênicas com *Bacillus thuringiensis* podem contribuir para um manejo sustentável de pragas, desde sua utilização siga os preceitos do Manejo Integrado de pragas, podendo contribuir para uma redução no número de pulverizações de inseticidas contra pragas-chave.

Este manejo adequado relativo ao uso das plantas transgênicas consiste em: (i) plantar refugio (plantio de uma faixa não BT), (ii) fazer rotação de culturas e de diferentes transgênicos na área, (iii) monitorar a lavoura e aplicação de outro método de controle sempre que a praga atingir o nível de ação e (iv) fazer o controle de plantas transgênicas voluntárias. Este manejo adequado permite um melhor controle de lagartas, o qual por fim garante uma melhor produtividade do milho.

São vários os métodos de controle de insetos na cultura do milho doce, porém para a agricultura de grande escala os mais usados são controle químico e o controle por resistência de plantas, sendo mais comum a resistência convencional e por transgenia/biotecnologia (Pereira Filho et al. 2014).

O uso de plantas resistentes, transgênicas ou não, visando ao manejo de uma determinada praga, é considerado uma das bases do manejo integrado. As plantas transgênicas BT, especialmente para aqueles cultivares que expressam mais que uma proteína transgênica (processo conhecido como piramidação, no qual são inseridas na planta mais de um gene BT para a produção de toxina Cry ou Vip), constitui tecnologia bastante promissora para ser utilizada no controle de lagartas de *Helicoverpa spp* e entre outras lepidópteras (Pereira Filho et al. 2014).

Após a revisão de 147 artigos em 20 anos de estudos, concluiu-se que a biotecnologia contribuiu para uma redução de 37% no uso de inseticidas com um incremento de 22% de produtividade (ISAAA 2014). Os dois principais produtos

transgênicos resistentes a insetos praga comercializados são o milho BT e o algodão BT (James 2004). A utilização do milho BT causou impactos positivos sobre a produtividade, sobre o lucro e sobre os custos de produção. Mas a amplitude desses impactos variou em função da incidência de pragas em cada região, quanto maior a incidência normalmente maior são os ganhos (Brookes 2003).

Atualmente no Brasil tem-se 82% dos 12.5 milhões de hectares plantados com plantas transgênicas de milho, soja e algodão, tanto para o controle de pragas como para a tolerância aos herbicidas (CTNbio 2014).

Os cultivares transgênicos disponíveis para o milho doce são MIR162 e o MON89034, os quais já passaram por testes exigidos na legislação nacional para o consumo humano e animal (CTNbio 2014), e são comercializados hoje no Brasil.

O mecanismo de ação do milho transgênico BT envolve sequencialmente a solubilização do cristal no intestino médio do inseto em pH alcalino, a ação de proteases sobre os cristais formando protoxinas Cry, a aderência das protoxinas Cry aos receptores do intestino médio, e por fim a sua inserção dentro da membrana apical criando canais de íons ou poros. A formação dos poros permite o extravasamento do conteúdo estomacal para a hemocele do inseto provocando uma infecção generalizada (Tojo e Aizawa 1983).

As toxinas do BT apresentam alta especificidade e, dentro do mesmo grupo de insetos, a atividade de cada toxina é diferente. Estudos toxicológicos mostram diferenças significativas em nível de espécie. Portanto, a estratégia de piramidação de dois ou mais genes *Cry*, expressando diferentes toxinas em uma mesma cultivar, não só contribui para o manejo da resistência, mas também aumenta a eficiência no controle de diferentes espécies de insetos-praga (Carneiro et al. 2009).

O *Bt* é ativo contra várias espécies de insetos e é considerado seguro em relação aos mamíferos, um dos motivos é que diferente dos insetos que tem o *ph* do sistema digestivo alcalino o dos mamíferos é ácido, degradando assim a proteína. Outra vantagem para a sua utilização é a especificidade em relação aos insetos-praga das diferentes culturas. Há um grande número de genes que são estudados e sequenciados hoje, usam-se números arábicos: *Cry1*, *Cry2*, *Cry3*, *Cry4* até *Cry50*.

Os genes *Cry1*, *Cry2* e *Cry9* são específicos em relação aos lepidópteros, *Cry2* são ativos contra Dipteros e *Cry3*, *Cry7* e *Cry8* contra Coleopteros, *Cry5*, *Cry12*, *Cry13* e *Cry14* são ativos contra nematóides e, *Cry2*, *Cry4A*, *Cry10*, *Cry11*, *Cry17*, *Cry19*,

Cry24, *Cry25*, *Cry27*, *Cry29*, *Cry30*, *Cry32*, *Cry39* e *Cry40* são ativos contra Dipteros (Carneiro et al. 2009).

Os genes *CryI* codificam protoxinas, as quais combinam com os cristais de forma bipiramidal, possuem tipicamente mais do que um produto gênico. A proteína *Cry1A* é o tipo mais comum de cristal encontrado dentre as cepas de *Bt* (Cerón et al., 1994) e o gene *Cry1Ab*, o mais distribuído entre as diferentes subespécies de *Bt* (Yamamoto e Powell 1993).

A manipulação genética de genes *Cry* em *B. thuringiensis* pode se tornar um meio promissor de melhorar a eficiência e a relação custo/benefício de bioinseticidas e de plantas transgênicas expressando estes genes. Diferentes isolados de *Bt* podem mostrar uma amplitude muito grande na atividade tóxica contra a mesma espécie, sendo que um isolado pode ser muito tóxico contra uma espécie e virtualmente inativo contra outra. Existem algumas combinações de proteínas *Cry* que mostram uma toxicidade sinérgica em relação aos lepidópteros (Lee et al. 1996). Alguns autores relatam que em bioensaios houve sinergismo entre as proteínas *Cry1Aa* e *Cry1Ac*, enquanto que a mistura de *Cry1Aa* e *Cry1Ab* mostrou antagonismo em relação ao controle de *Lymantria dispar* (mariposa-cigana).

Além das proteínas *Cry* existem trabalhos com as proteínas VIP (Vegetative Insecticidal Protein), estas foram descritas por Estruch et al. (1996) e recebem essa denominação por serem produzidas na fase vegetativa de crescimento de *B. thuringiensis*. Sua concentração também permanece alta antes e depois da fase de esporulação da bactéria. A proteína *Vip 3A* é eficiente para o controle de lepidópteros praga, e é utilizada em plantas transgênicas (Bommireddy et al. 2007).

A Embrapa tem relatado alguma dificuldade em controlar lagartas de *S. frugiperda* com as proteínas *Cry* e é confirmada por Baum et al. (1999), que pode haver variação dentro do mesmo gênero, o que pode indicar uma tolerância natural a estas proteínas inseticidas. Pesquisadores fizeram uma caracterização de genes *Cry* de uma coleção mexicana de *B. thuringiensis* e encontraram os genes *Cry1D* e *Cry1C* como os produtores das toxinas mais eficazes para lagartas de *S. frugiperda* e *S. exigua* (Valicente e Barreto 2003).

Algumas vezes os bioinseticidas à base de *Bt* não têm dado bons resultados no controle de *S. frugiperda*, tem-se observado que plantas transgênicas com o gene *BT* apresentam algum nível de resistência a essa espécie (Williams et al. 1997). Em dietas contendo apenas estilo-estigma de milho transgênico, não se observou mortalidade, mas

notou-se redução significativa no desenvolvimento dos insetos (Williams et al. 1998, Mareida; 1997).

O milho doce BT (MON 89034) é um milho transgênico produzido através da transformação por *Agrobacterium tumefaciens* que produz duas proteínas BT, Cry 1A105 e Cry 2Ab2, conferindo-lhe uma tolerância a alguns insetos lepidópteros e é registrada para as seguintes pragas: *Spodoptera frugiperda*, *H. zea* e *Diatraea saccharalis*. Esta tecnologia foi aprovada no Brasil no ano de 2010 e os híbridos de milho doce estão sendo testados por algumas empresas (CTNBio 2014).

2. OBJETIVO

Avaliar a eficiência do milho doce transgênico BT no manejo de lepidópteros praga.

CAPÍTULO II

(Norma de acordo com a revista Journal of Economic Entomology)

ABSTRAT

Sweet BT corn as a pest management tool to deal with lepidopteran pests in the Brazilian Midwest region

Sweet corn (*Zea mays* L. saccharata group) is known to have more sugar than conventional corn cultivars. The management of Lepidoptera in conventional maize has happened mainly by the application of insecticides and use of transgenic cultivars. However, in Brazil there is still very little information regarding the use of BT sweet corn to manage these pests. Thus, the present dissertation study proposed to evaluate the efficiency of BT sweet corn against lepidopteran pests. The experiments followed a randomized block design with four treatments and six replications in each experiment. The treatments are as follow: I - conventional plus insecticide; II - conventional without insecticide; III - BT plus insecticide; and IV - BT without insecticide. The treatments with insecticides were sprayed seven times following technical recommendations from the sweet corn industry personnel. The results showed a slower evolution of injury on the corn leaves (caused by caterpillars) in treatments with BT corn. Likewise, a significantly lower injury was observed in the ears (cobs and kernels) of BT plants, regardless of insecticide application. The number of caterpillars (*S. frugiperda* and *Helicoverpa* spp.) was also lower in the treatments with BT corn. In general, it was also observed larger ears and higher grain yield in treatments with BT corn. In summary, the study shows that BT sweet corn can be a good additional tool to be used in the integrated pest management programs of sweet corn pests, mainly targeting the control of *S. frugiperda* and *Helicoverpa* spp.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa*, Cry1A105, Cry2Ab2, corn ear injury.

RESUMO

Milho Doce BT como Ferramenta para o Manejo de Lepidópteros Praga no Centro-Oeste Brasileiro

O milho doce (*Zea mays* L. g. *saccharata*) possui mais açúcar que o milho comum. O manejo de lepidópteros no milho convencional é conduzido principalmente pela aplicação de inseticidas e uso de cultivares transgênicas. Já para o milho doce, há uma carência de informações com relação ao uso de transgênicos para o controle destas pragas. Desta forma, o presente trabalho de dissertação teve como objetivo avaliar a eficiência do milho doce transgênico BT no manejo de lepidópteros. O estudo foi realizado em épocas distintas. Os experimentos seguiram um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram: I – convencional com inseticida; II – convencional sem inseticida; III – BT com inseticida; IV – BT sem inseticida. Os tratamentos com inseticidas receberam sete aplicações seguindo recomendações técnicas da indústria de milho doce. Os resultados mostraram uma menor evolução da injúria nas folhas (causadas por lagartas) nos tratamentos com milho BT. Similarmente, foi observado uma injúria significativamente menor nas espigas (sabugo e grãos) das plantas BT, independente da aplicação de inseticidas. O número de lagartas (*S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp.) foi também menor nos tratamentos com milho transgênico. Em geral, também foi observado maiores espigas e maior rendimento de grãos nos tratamentos com milho BT. Por fim, o estudo mostra que o milho doce BT pode ser uma boa ferramenta adicional a ser utilizada no manejo integrado de pragas do milho, visando principalmente o controle de lagartas como *S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp.

Palavras-Chave: *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa*, Cry1A105, Cry2Ab2, injúria na espiga.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a área mundial cultivada de milho doce é de 900 mil hectares (USDA 2015). No Brasil cultivam-se 36 mil hectares, na qual praticamente 100% da produção é destinada ao processamento industrial (Pedrotti et al. 2003) e o município de Morrinhos – GO representa 20% desta área (Prefeitura de Morrinhos – GO. 2015).

O milho doce (*Zea mays* L. grupo saccharata) pertence à família Poaceae e ao gênero *Zea*. A maior quantidade de açúcar encontrada no milho doce é um caráter genético recessivo (Pereira Filho, Cruz, Gama 2003). Em termos de qualidade, enquanto o milho comum apresenta entre 3% de açúcar e 60% - 65% de amido; o milho doce tem 9% -14% de açúcar, e 30%- 35% de amido (Gama 2003).

Segundo Pereira Filho et al. (2002), algumas pragas que atacam as plantas e as espigas do milho doce causam perdas significativas durante o cultivo e a pós-colheita. Entre as principais pragas estão a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea* Boddie, 1850), a mosca (*Euxesta* spp), a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith 1797), e mais recentemente *Helicoverpa armigera* (Pereira Filho et al. 2002).

A lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* é considerada praga-chave da cultura em condições de campo, causa danos em praticamente toda a fase vegetativa e reprodutiva do milho, podendo assim comprometer a produção. A lagarta-da-espiga *H. zea* (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada a praga que causa mais prejuízo nas grandes culturas da América do Norte (Capinera 2014). *H. zea* já foi relatada atacando a cultura do milho doce de três formas: (i) atacando os estigmas (impedindo a fecundação), (ii) alimentando-se de grãos leitosos, e (iii) os orifícios deixados pelas lagartas nas espigas facilitam a penetração de microrganismos e entrada de outros insetos como Coleopteros e Dipteros (Gassen 1996).

Após sua recente introdução no Brasil em 2013 a lagarta *H. armigera* também pode ser inserida nesta lista de pragas importantes do milho (Czepak et al. 2013). Esta praga foi observada atacando os órgãos reprodutivos das plantas, assim como a *H. zea* (Czepak et al. 2013). As lagartas de *H. armigera* podem se alimentar tanto dos órgãos vegetativos como reprodutivos de várias espécies de plantas de importância econômica. O tipo de injúria provocada pela *H. armigera* e *H. zea* em milho não pode ser distinguida a nível de campo (Czepak et al. 2013).

Para a agricultura de larga escala o controle químico ainda é muito utilizado. O controle de *H. zea* através do emprego de inseticidas tem eficiência relativamente baixa (Viana Costa 1994). A indústria de milho doce enlatado tem relatado entre 7 e 10

aplicações de inseticidas para o controle da *S. frugiperda* e a *H. armigera* (Paulo Felici, *Comunicação Pessoal* 2014).

O uso de plantas transgênicas BT, especialmente para aqueles cultivares que expressam mais de uma proteína transgênica (processo conhecido como piramidação) constituem uma tecnologia bastante promissora para o manejo de lagartas *H. armigera*, *H. zea* e outros lepidópteros (Pereira Filho et al. 2014). O *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria Gram positiva, que pode ser caracterizada pela sua habilidade de formar cristais protéicos durante a fase de esporulação. Segundo Mendes (2012) a utilização de plantas transgênicas com *Bacillus thuringiensis* pode melhorar o manejo de pragas, desde que bem planejado e seguindo os preceitos do MIP. Desta forma, podendo contribuir para a diminuição dos danos na cultura do milho e reduzir o uso de inseticidas para controlar as pragas alvo (ex., lagartas).

Os cultivares transgênicos disponíveis atualmente para o milho doce são MIR162 e o MON89034, os quais já passaram por testes exigidos na legislação nacional para o consumo humano e animal (CTNbio 2015), já em fase comercial hoje no Brasil. O mecanismo de ação do milho transgênico BT envolve a solubilização do cristal no intestino médio do inseto em pH alcalino, e a formação dos poros permite o extravasamento do conteúdo estomacal para a hemocele do inseto provocando uma infecção generalizada (Tojo e Aizawa 1983).

O milho doce BT (MON 89034) é um milho transgênico produzido através da transformação por *Agrobacterium tumefaciens* que produz duas proteínas BT, Cry 1A105 e Cry 2Ab2, conferindo-lhe uma tolerância a alguns insetos lepidópteros e está registrado para as seguintes pragas: *Spodoptera frugiperda*, *H. zea* e *Diatraea saccharalis*. Esta tecnologia foi aprovada no Brasil em 2010 e os híbridos de milho doce estão sendo testados por algumas empresas (CTNBio 2014). Porém apesar do grande número de pesquisas, tem-se poucos trabalhos publicados no Brasil sobre a eficácia destas proteínas para o controle de lagartas do gênero *Helicoverpa*. Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar o efeito de inseticidas convencionais e a tecnologia BT no manejo de *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa spp* na cultura do milho doce no Centro oeste do Brasil.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na estação experimental da Monsanto em Morrinhos – GO nas coordenadas, latitude sul 17.900626° e longitude oeste 49.237917°, em um Latossolo. As sementeiras dos experimentos foram realizadas nos dias 19 de novembro e 19 de dezembro de 2014, para a primeira e segunda época respectivamente. As sementeiras foram feitas sobre restos culturais de milho que foram dessecados com glifosato (1440 g ia/ha) 20 dias antes da sementeira a fim de evitar incidência de lagartas na fase inicial da cultura. Nas proximidades do experimento foram conduzidas áreas cultivadas com soja, milho e algodão, a uma distância média de 50, 100 e 400 m respectivamente.

A sementeira foi realizada com matraca de experimento (Mod 5, SB Máquinas de Cambé – PR) após a abertura dos sulcos de forma tratorizada (com sementeira de plantio direto, Seed 360, marca Almaco). O fertilizante foi colocado no sulco no momento da abertura. Seguindo-se a análise de solo, a adubação realizada foi de 450 kg/ha de (NPK) 8-30-20 mais 460 kg/ha de (NPK) 45-00-00. Os experimentos foram conduzidos no campo com parcelas (repetições) de 6 linhas com 0,75 metros de espaçamento entre linhas e com 5 metros de comprimento (figura 2), totalizando 22,5 m² por parcela. Foram colocadas 3 sementes por cova, a fim de garantir a mesma população de plantas no estágio V3.

No estágio de V3 foi realizado um desbaste manual, garantindo que todas as parcelas ficassem com 58 mil plantas por hectare, população esta recomendada para o híbrido em Morrinhos -GO.

Os experimentos em ambas as épocas seguiram um delineamento de blocos inteiramente casualizados, com quatro tratamentos e seis repetições, em cada época (figura 1). Os quatro tratamentos foram resultados de um fatorial 2x2 (2 tipos de milho X presença/ausência de inseticida) **(I) convencional com inseticida; (II) convencional sem inseticida; (III) BT com inseticida; e (IV) BT sem inseticida.** O milho BT utilizado foi o VTPRO, uma tecnologia registrada pela Monsanto como MON89034 e que expressa as proteínas Cry1A105 + Cry2Ab2, produto comercial Performance Series. Foram utilizadas bordaduras de 6 linhas (4,5 m) ao redor das repetições para evitar deriva e interferência cruzada entre os tratamentos.

O híbrido utilizado foi o **Seminis 006** como convencional e o **Seminis 006** (9298) **VTPRO** BT (Performance Series). Foi utilizado o tratamento de sementes com fungicida Fludioxonil 2.5 g ia/60 mil sementes mais o inseticida Thiamethoxam 42 g

ia/60 mil sementes para ambos os híbridos, a fim de reduzir a incidência de fungos e ataques de pragas na fase inicial do estabelecimento da cultura do milho doce.

1ª época							
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	CS	CC	BC	BS	CC	CS	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	BS	BS	CC	CS	CS	BC	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	BC	CS	CS	CC	BC	BS	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	CC	BC	BS	BC	BS	CC	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda

2ª época							
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	CC	CS	BS	BC	CC	CS	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	BS	BS	CS	CC	CS	BC	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	CS	BC	CC	CS	BC	BS	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda
borda	BC	CC	BC	BS	BS	CC	borda
borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda	borda

Figura 1: Croqui experimental das duas épocas de semeadura, Convencional sem inseticidas (CS), Convencional com inseticidas (CC), BT sem inseticidas (BS) e BT com inseticidas (BC). Morrinhos, GO, 2015.

O manejo de invasoras foi realizado em todas as parcelas em V4 através de uma aplicação de Atrazine 2500 g ia/ha e Tembotriona 42 g ia/ha mais duas capinas, manuais em V6 e V12. Foi realizada a aplicação de Azoxistrobina 60 g ia/ha e Ciproconazol 24 g ia/ha em V10 em todas as parcelas a fim de minimizar a ocorrência de doenças no milho doce.

Os tratamentos **com inseticidas** receberam sete aplicações (média utilizada na região, segundo registros dos departamentos técnicos da Dez Alimentos e da Olé Agroindustrial) até o final do ciclo da cultura em ambas as épocas, nos seguintes estádios: V4, V6, V8, V10, V12, R1 e R2. Os inseticidas utilizados e suas doses estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Inseticidas, doses e respectivos estádios de aplicação dos tratamentos com inseticida nas duas épocas do experimento.

Estádio	Ativo	g ia /ha
V4	CHLORANTRANILIPROLE	25.00
V6	LAMBDA-CIALOTRINA	7.50
V6	CHLORANTRANILIPROLE	15.00
V8	METOMIL	126.00
V8	LUFENUROM	15.00
V10	FLUBENDIAMIDA	72.00
V12	CHLORANTRANILIPROLE	25.00
R1	METOMIL	126.00
R1	LUFENUROM	15.00
R2	CHLORANTRANILIPROLE	25.00

Estes inseticidas foram aplicados com pressurizador CO₂ marca Herbicat, com uma barra de ponta *Jato Cônico Vazio VisiFlo TX-4* com uma vazão de 200 litros de calda por hectare a uma velocidade de 3,6 km/h, aplicado sobre as parcelas durante os estádios vegetativos (figura 2) e jato dirigido diretamente sobre as espigas nos estádios reprodutivos, pulverizando linha por linha.

Foram realizadas quatro avaliações de injúrias causadas por *S. frugiperda* nos cartuchos em V4, V6, V8 e V10 utilizando-se a escala de notas (0 a 9) adaptada de Davis et al. (1992) conforme a tabela 2.

Tabela 2. Descrição das notas da escala Davis et al. (1992).

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

Para a avaliação de injúria na escala Davis foram marcadas aleatoriamente 20 plantas na segunda linha de cada parcela (figura 2) (Polato e Oliveira 2011). As plantas foram numeradas de 1 a 20 e as notas eram dadas individualmente por planta, sendo que as quatro avaliações foram repetidas nas mesmas plantas ao longo do tempo.



Figura 2: Parcela experimental do milho doce BT sem inseticida em V10 com a desmotração das respectivas seis linhas (L1-L6). Morrinhos, GO, 2015.

No estágio de R3 foi realizada uma avaliação para identificar as lagartas e medir as injúrias causadas nas espigas, avaliando separadamente as injúrias nos grãos e nas ráquis (sabugo). Esta avaliação foi realizada na segunda e quinta linha das parcelas através de um levantamento aleatório de 10 espigas, onde as lagartas encontradas na espiga eram contadas e identificadas. Após a retirada das espigas, estas foram despalhadas e a injúria na espiga foi quantificada através de uma tabela quadriculada transparente medindo-se a área (em cm²) que foi consumida pela praga, separando-se os dados de injúria nos sabugos e danos nos grãos, conforme figura 3.

Três dias antes da colheita foi realizada a contagem de todas as plantas das duas linhas centrais da parcela (parcela útil de colheita) a fim de determinar o *stand* final de plantas. Neste momento também realizou-se a contagem de plantas quebradas (quebramento de colmo), acamadas (acamamento na raiz) e dominadas (plantas com 30% de redução de porte).



Figura 3: Identificação de espécie de lagarta atacando a espiga (*Helicoverpa* sp.) (foto A), e tabela quadriculada transparente (foto B) sobre a área consumida pelas lagartas para a contagem de injúria nos grãos e no sabugo do milho doce no estágio R3. Morrinhos, GO, 2015.

A colheita foi realizada em todas as plantas das duas linhas centrais das parcelas (linhas 3 e 4, conforme figura 2), quando mediu-se: (i) o peso total de espigas da parcela com palha e sem palha (usou-se uma balança modelo Filizola 30), e o (ii) comprimento e diâmetro em centímetros das espigas sem palha utilizando-se um paquímetro analógico milimétrico marca Workfer. Em seguida o rendimento médio de grãos foi avaliado com a remoção de todos os grãos de todas as espigas da parcela, usando uma desgranadeira industrial; e por fim deduzindo o rendimento pela diferença entre o peso dos grãos e sabugos.

Os adultos das espécies de lepidópteros que ocorriam na área foram monitorados com a ajuda de armadilhas luminosas (Bio-controle de Indaiatuba-SP) em 3 pontos da Estação Experimental, sendo um ponto ao lado do ensaio (10 m) e outros dois mais distantes (200 m), a fim de evitar que as armadilhas contribuíssem para o controle destes insetos praga. Este levantamento era realizado uma vez por semana com a permanência da armadilha ligada durante uma noite, de outubro de 2014 até março de 2015, totalizado 20 coletas semanais. Após a coleta, o cesto com os insetos era acondicionado em um freezer por 4 horas a fim de matar os mesmos e impedir que eles fugissem durante a abertura do cesto. Após este processo os insetos eram levados ao

laboratório para a identificação por espécies, utilizando-se chaves de identificação com o auxílio de lupas (Passoa 1991).

As condições climáticas dos experimentos foram registradas em intervalos de 10 minutos com a utilização de uma estação automática modelo Davis Vantage Pro2 a uma distância de aproximadamente 500m do experimento (dados na seção ‘resultados’).

3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Diferenças entre tratamentos com relação às notas da escala Davis foram testadas conduzindo anovas do tipo medidas repetidas (PROC MIXED) para cada época de plantio. Para cada análise foram construídas estruturas de covariância para o modelo ‘mixed’ de medidas repetidas. ARH(1) e TOEPH(1) foram determinados como os melhores modelos estatísticos para a estrutura de covariância das análises referentes as épocas 1 e 2, respectivamente. Quando encontrada uma diferença significativa entre os tratamentos, juntamente com uma interação significativa entre tempo e tratamento uma comparação entre médias dos dados ranqueados foi conduzida separadamente para cada fase (V4, V6, V8 e V10).

As diferenças entre tratamentos com relação aos parâmetros peso de espigas sem palha e com palha, comprimento e diâmetro de espiga, rendimento na lata e sabugo, foram investigadas com duas análises de multivariada (MANOVA), uma para cada época de plantio. Antes desta análise, a normalidade dos dados foi testada avaliando a igualdade da variância (plotando resíduos vs estimados), conduzindo teste de Levene, e plotando ‘studentized residuals vs normal quintile’ para identificar ‘outliers’. Quando encontrada uma diferença significativa entre os tratamentos uma comparação entre médias foi conduzida pelo método LSMEANS para cada parâmetro testado.

A mesma análise de multivariadas (MANOVA) também foi conduzida para avaliar possíveis diferenças entre os tratamentos com relação aos danos causados por lepidópteros nos grãos e sabugo. Além disso, MANOVA também foi conduzida para testar o efeito dos tratamentos sobre o número de lagartas *S. frugiperda* e *Helicoverpa* sp. (separadas e juntas) para as épocas 1 e 2 agrupadas. Todas as análises foram conduzidas no programa SAS (Statistical Analysis Software).

4. RESULTADOS

4.1 Injúria causada pela lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) na fase vegetativa da cultura do milho doce

Os dados de injúrias foliares (cartucho) causadas por lagartas de *S. frugiperda* foram analisados separadamente por época de semeadura. Para a primeira época foi observado efeito significativo dos fatores tipo de milho e inseticida, bem como um efeito significativo da interação destes dois fatores, e também quando combinados com o fator tempo (Tabela 3). Na segunda época também foi observado um efeito significativo do fator milho, porém não houve efeito significativo do fator inseticida, quando só ou interagindo com o fator milho (Tabela 3). Na primeira época de plantio foi observada maior injúria nos cartuchos do tratamento convencional sem inseticida (testemunha) e menor injúria nos tratamentos com milho BT, independente da aplicação de inseticida (Figura 4). De qualquer forma, a aplicação de inseticida no milho convencional proporcionou uma redução significativa da injúria quando comparado com a testemunha (Figura 4); porém, não foi tão eficiente quanto o milho BT. Em geral, o nível de injúria nos cartuchos de todos os tratamentos observados na segunda época foi relativamente inferior àquele da primeira época (Figura 5). De qualquer forma, na segunda época ainda observou-se uma melhor eficiência do milho BT (Figura 5). Porém, na segunda época o milho convencional tratado com inseticidas mostrou melhor eficiência quando comparado com os resultados da primeira época, principalmente na fase de desenvolvimento V10 (Figura 5).

Tabela 3. Resultados das análises estatísticas para os principais efeitos e suas interações.

Época 1			
Resposta(s)	Efeito	F	P
Injúria nas folhas ¹ (Escala Davis)	bloco	2,06	0,1208
	milho	64,36	<0,0001
	inseticida	20,10	0,0002
	milho*inseticida	6,74	0,0176
	milho*inseticida*tempo	9,11	<0,0001
Injúria no sabugo e grãos ²	milho	64,78	<0,0001
	inseticida	0,69	0,5158
	milho*inseticida	0,27	0,7631
Espiga ² : peso com e sem palha, diâmetro e comprimento, rendimento de grãos no sabugo e na lata	milho	4,86	0,0068
	inseticida	0,27	0,9213
	milho*inseticida	2,25	0,0990
Época 2			
Resposta(s)	Efeito	F	P
Injúria nas folhas ¹ (Escala Davis)	bloco	2,30	0,0829
	milho	18,01	<0,0001
	inseticida	1,75	0,1974
	milho*inseticida	0,13	0,8779
	milho*inseticida*tempo	15,20	<0,0001
Injúria no sabugo e grãos ²	milho	20,84	0,0001
	inseticida	2,57	0,1027
	milho*inseticida	0,84	0,4461
Espiga ² : peso com e sem palha, diâmetro e comprimento, rendimento de grãos no sabugo e na lata	milho	10,01	0,0001
	inseticida	1,92	0,1475
	milho*inseticida	3,88	0,0170
Época 1 + Época 2			
Resposta(s)	Efeito	F	P
Número de lagartas ²	época	11,32	0,0001
	milho	64,78	<0,0001
	inseticida	0,90	0,4140
	época*milho	7,02	0,0024
	época*inseticida	1,45	0,2469
	milho*inseticida	1,17	0,3208

¹ ANOVA tipo medidas repetidas (PROC MIXED), ² ANOVA multivariada (MANOVA)

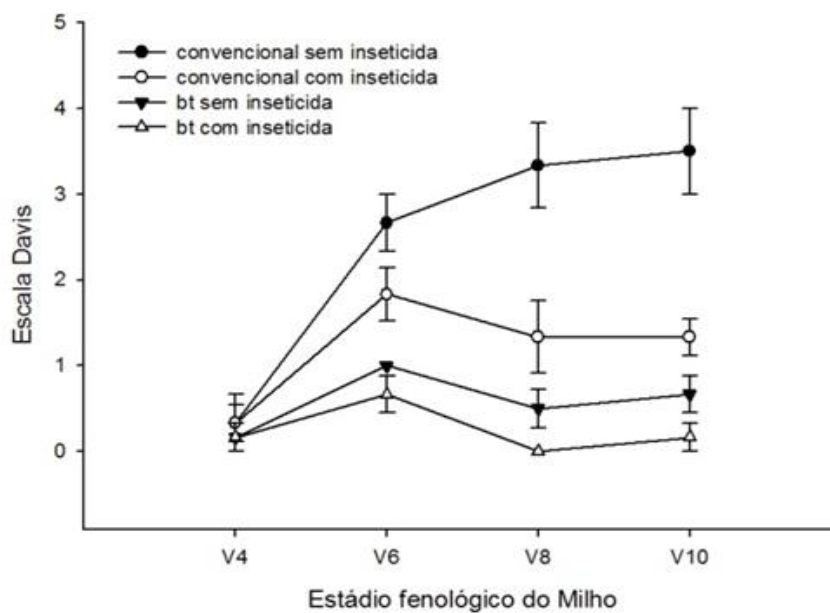


Figura 4: Média de notas da escala Davis et al. (1992) nos estádios fenológicos do milho doce (V4 -V10) na primeira época. Morrinhos, GO, 2015.

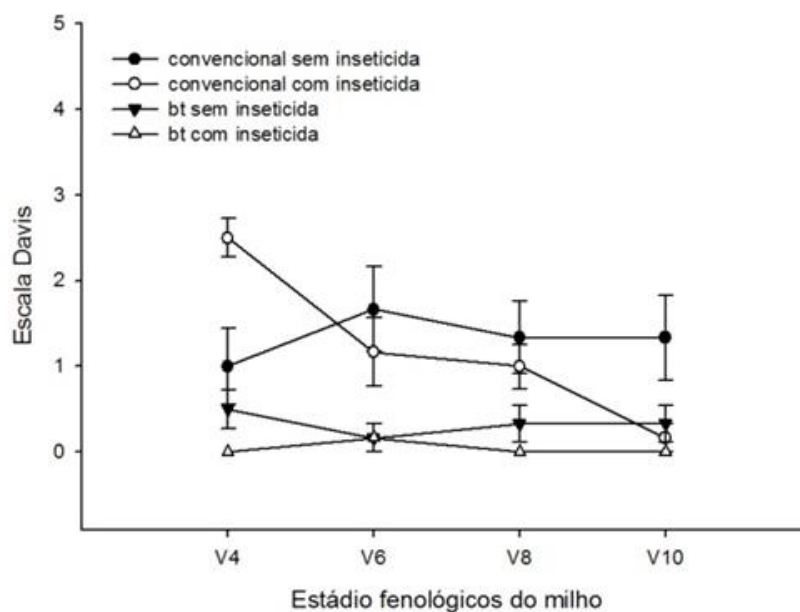


Figura 5: Média de notas da escala Davis et al. (1992) nos estádios fenológicos do milho doce (V4 -V10) na segunda época. Morrinhos, GO, 2015.

4.2 Danos causados por lagartas na fase reprodutiva da cultura do milho doce

Observou-se efeito significativo do fator milho sobre o nível de injúria causado no sabugo e grãos pelas lagartas *Helicoverpa* spp. em ambas épocas de semeadura

(Tabela 3). Porém, não houve efeito significativo do fator inseticida, quando só ou interagindo com o fator milho, em ambas as épocas (Tabela 3). A injúria causada por *Helicoverpa* spp. nos sabugos e grãos foi significativamente inferior nos tratamentos com milho BT, independentemente da aplicação de inseticidas (Figuras 6 e 7).

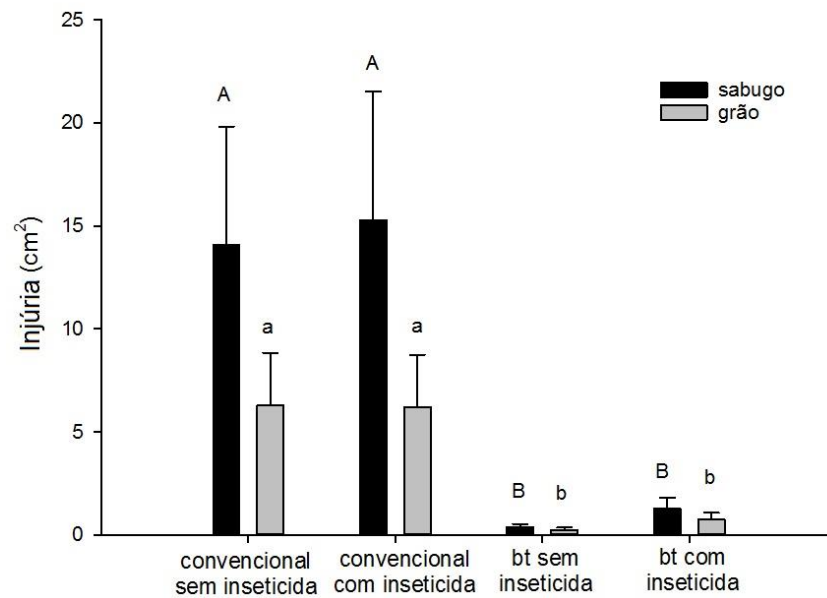


Figura 6: Valores médios da injúria causada nos grãos e nos sabugos do milho doce na primeira época (Colunas seguidas pelas mesmas letras maiúsculas/minúsculas (para cada parâmetro) não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de média Tukey). Morrinhos, GO, 2015.

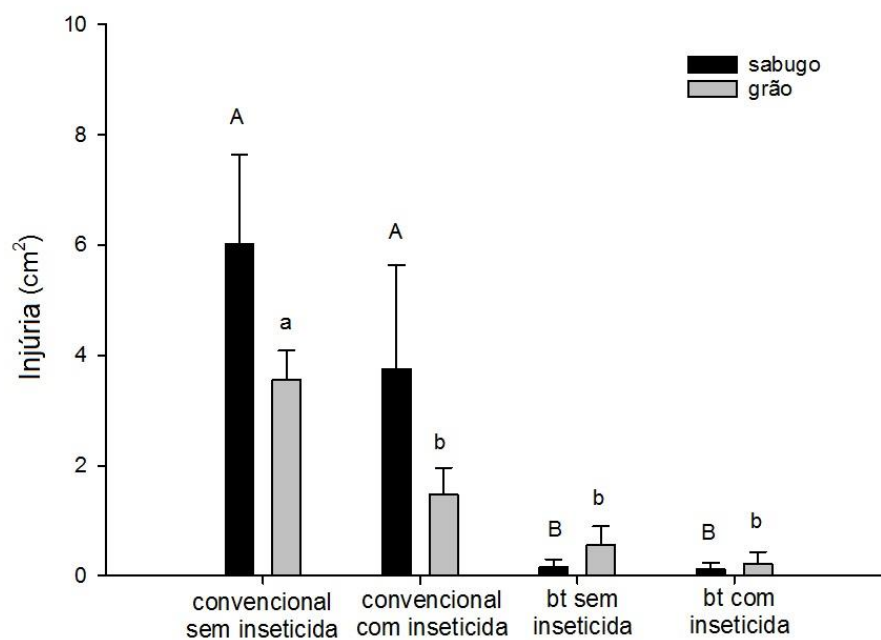


Figura 7: Valores médios da injúria causada nos grãos e nos sabugos do milho doce na segunda época (Colunas seguidas pelas mesmas letras maiúsculas/minúsculas (para cada parâmetro) não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de média Tukey). Morrinhos, GO, 2015.



Figura 8: Lagartas de *Helicoverpa* spp coletadas em uma parcela de milho doce convencional com inseticida. Morrinhos, GO, 2015.



Figura 9: Dano de lepidópteros nas espigas de milho doce convencional sem inseticida e BT sem inseticida. Morrinhos, GO, 2015.

4.3 Levantamento e identificação das espécies presentes nas espigas do milho doce

Observou-se efeito significativo dos fatores época, milho e sua interação, sobre o número de lagartas encontradas nos diferentes tratamentos durante as duas épocas de semeadura (Tabela 3). As espécies de lagartas encontradas atacando o milho doce foram *Helicoverpa* spp e *S. frugiperda* (Figura 10), sendo a primeira a mais comum. Essas lagartas causaram injúrias significativas nas espigas, especialmente no tratamento testemunha (Figura 6 e 7). Apesar de uma densidade populacional de lagartas relativamente baixa, ainda sim foi observado um número significativamente inferior de lagartas (*Helicoverpa* spp e *S. frugiperda*) nas plantas de milho BT em ambas as épocas de semeadura, independente da aplicação de inseticidas (Figura 10).

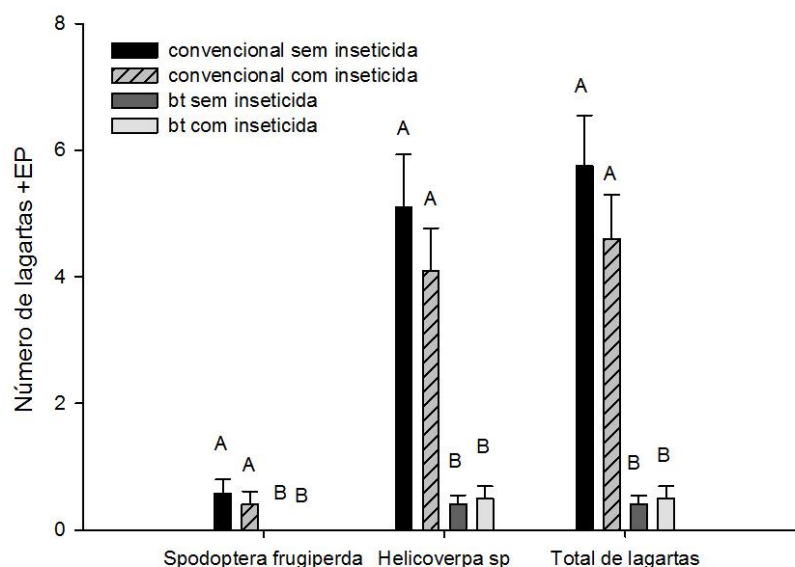


Figura 10: Quantidade de *Helicoverpa* spp e *S. frugiperda* encontradas nas espigas do milho doce por parcela avaliada nas duas épocas de semeadura (Dentro de cada fator médio, nas colunas, seguidas da mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de médiaTukey). Morrinhos, GO, 2015.

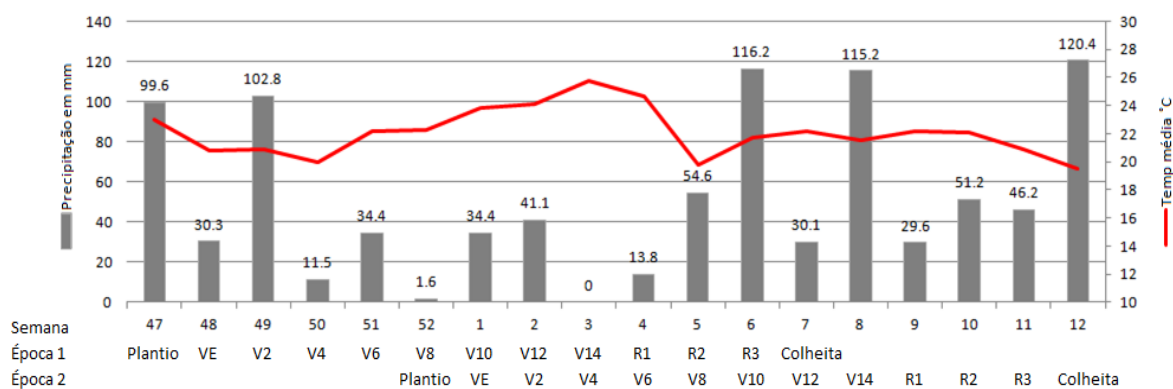


Figura 11: Precipitação acumulada em milímetros e temperatura média em graus célcus da 47ª semana de 2014 a 12ª semana de 2015 e os respectivos estádios fenológicos do milho doce nas duas épocas de semeadura. Dados da estação automática modelo Davis Vantage Pro2. Morrinhos, GO, 2015.

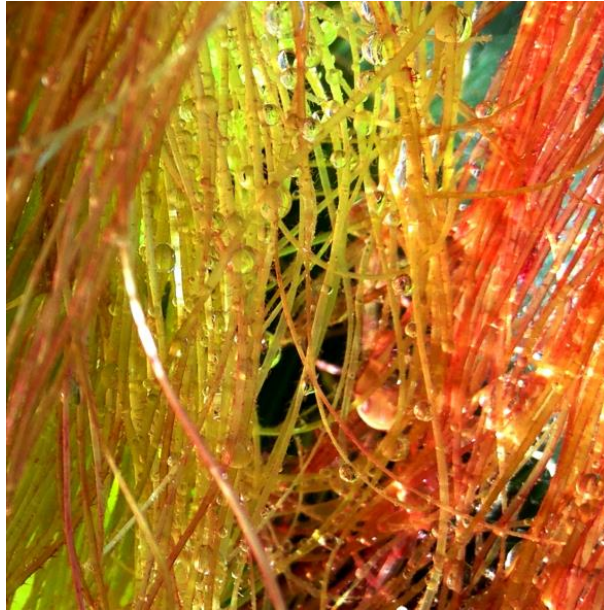


Figura 12: Gotículas de água no estilo estigma da espiga do milho doce, demonstrando a baixa dispersão das gotas. Morrinhos, GO, 2015.

4.4 Produtividade final do milho doce

Um conjunto de parâmetros foi medido em algumas espigas de cada tratamento durante o processo de colheita em ambas épocas. Os parâmetros medidos foram: peso das espigas com e sem palha (g), diâmetro e comprimento das espigas (cm), peso do sabugo (g) e rendimento dos grãos na lata (g). Foi observado um efeito significativo do fator milho sobre todos estes parâmetros, em ambas as épocas (Tabela 3). A interação significativa entre os fatores milho e inseticida só foi observado para a segunda época (Tabela 3).

De acordo com o teste de média não houve diferença significativa entre os tratamentos em ambas épocas com relação ao peso das espigas com palha (Tabela 4). Entretanto observou-se maior peso (sem palha) para as espigas dos tratamentos com milho BT (independente da aplicação de inseticida) e convencional com inseticida, em ambas épocas (Tabela 4). Similarmente, foi observado maior diâmetro para as espigas dos tratamentos com milho BT (independente da aplicação de inseticida) e convencional com inseticida, apenas para a primeira época (Tabela 4). De forma geral, este mesmo padrão foi mantido também para os parâmetros peso de sabugo e rendimento de grãos na lata, em ambas épocas (Tabela 4).

Tabela 4. Dados médios de peso das espigas sem palhas (PESP), diâmetro da espiga (DE), comprimento da espiga (CE), peso do ráquis (sabugo) (PR) e rendimento de grãos (RG), na colheita do milho doce. Morrinhos – GO. 2015.

Época	Milho	Inseticida	PESP (g)	DE (cm)	CE (cm)	PR (g)	RG (g)
1	BT	com ins	11170.0 ±571.34 A	5.44 ± 0.08 AB	21.27 ±0.50 A	4581.6 ±204.70 A	6588.3 ±383.47 A
		sem ins	11551.7 ±351.50 A	5.62 ± 0.04 A	21.72 ±0.44 A	4571.6 ±130.98 A	6980.0 ±233.56 A
	Conv	com ins	9720.0 ±427.44 AB	5.45 ± 0.09 AB	20.11 ±0.47 AB	3855.0 ±115.09 B	5865.0 ±316.31 AB
		sem ins	8975.0 ±555.83 B	5.21 ± 0.12 B	18.91 ±0.38 B	3643.3 ±244.60 B	5331.6 ±320.35 B
2	BT	com ins	11051.7 ±201.35 A	5.56 ±0.05 A	17.11 ±0.50 A	3796.6 ±39.72 A	7255.0 ±163.79 A
		sem ins	11070.0 ±269.16 A	5.63 ±0.05 A	18.36 ±0.38 A	3816.6 ±64.96 A	7253.3 ±211.39 A
	Conv	com ins	10851.7 ±179.75 A	5.47 ±0.06 A	16.15 ±0.28 AB	3864.1 ±32.39 A	6987.5 ±148.36 A
		sem ins	9365.0 ±286.18 B	5.47 ±0.02 A	14.98 ±0.26 B	3375.0 ±113.35 B	5990.0 ±180.89 B

Dentro de cada fator médio, nas colunas, seguidas da mesma letra não diferiram entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ($\bar{x} \pm$ erro padrão). Conv = convencional; Ins = inseticida.

5 . DISCUSSÕES

Nas avaliações de injúria (desfolha) causado por *S. frugiperda* nas folhas do cartucho através do uso de escala de Davis et al. (1992), foi observado que (figura 4 e 5) a injúria média nas plantas foi menor nos tratamentos com milho BT, quando comparado com os convencionais. É provável que as lagartas que eclodiram nestas plantas ingeriram a protoxina e foram controladas mais rapidamente já nos primeiros ínstares (Loguercio et al. 2002). Desta forma, mantendo a injúria abaixo do linear de dano econômico (20% de nota maior ou igual a 3), concordando com relatos da literatura (Fernandes et al. 2003; Michelotto et al. 2011).

O tratamento convencional com inseticida reduziu significativamente a evolução da injúria quando comparado com o controle (convencional sem inseticida). Provavelmente as pulverizações controlaram as lagartas, porém em um momento após o qual a mesma já havia se alimentado da planta, causando portanto a desfolha. É possível que esse controle ‘relativamente tardio’ tenha sido a principal razão da diferença entre os tratamentos ‘BT sem inseticida’ e ‘convencional com inseticida’, o que estaria de acordo com o relatado de outros estudos (Waquil et al. 2002; Polato e Oliveira 2011).

Segundo Michelotto et al. (2011) geralmente é observado uma redução no nível de raspagem nas folhas por lagartas de *S. frugiperda* a partir da primeira aplicação do inseticida. Esta redução do nível de raspagem foi mais evidente na segunda época, provavelmente devido às condições climáticas mais úmidas, o que desfavorece o desenvolvimento das lagartas Wiatrak et al. (2004).

Estudos realizados pela Embrapa demonstraram que o período entre V6 a V10 é o estágio mais atacado por *S. frugiperda* (Cruz et al. 2009), evento este também observado no presente estudo de dissertação. Além disso, é provável que a sua infestação foi potencializada pelo período de déficit hídrico entre a 50ª e 52ª semana do ano. Segundo Wiatrak et al. (2004), o clima seco favorece o desenvolvimento e a sobrevivência das lagartas de *S. frugiperda* o que pode resultar em um aumento de injúrias nas folhas do cartucho. Sendo assim, este fato poderia responder, pelo menos parcialmente, a razão das diferenças entre a infestação da primeira e da segunda época.

Na segunda época de plantio, foi observado um período mais chuvoso quando comparado com a primeira época o que possivelmente contribuiu para a menor evolução de injúrias nas folhas (figura 5). Estes resultados corroboram os dados de Waquil et al. (2002), os quais também observaram resultados semelhantes em ambientes com umidade relativa elevada.

Nas avaliações da fase vegetativa não se pode dizer se a injúria foi causada por mais de uma lagarta, já que as notas são dadas devido apenas à desfolha das plantas e desta forma não verificando a presença ou ausência de lagartas.

Os resultados de injúria no sabugo e nos grãos do milho doce da primeira época (figura 6) apresentam uma significativa redução nos tratamentos com milho BT, quando comparamos com os tratamentos convencionais. Um padrão similar foi observado para a segunda época, porém, desta vez a aplicação de inseticidas resultou em uma redução significativa na injúria causada nos grãos (figura 7), assemelhando se desta forma aos tratamentos com plantas BT. A redução da injúria observada nas plantas BT se deve provavelmente a ação da protoxina BT presente nas espigas, a qual controla as lagartas logo após sua eclosão e ingestão de partes da espiga (Waquil et al. 2002; Loguercio et al. 2002).

Os dados demonstram que para ambas as pragas (*S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp) o milho BT teve incidência de lagartas significativamente menor que o milho convencional. Para a segunda época (figura 7) pode-se verificar que o tratamento BT com e sem inseticida teve um controle novamente superior no sabugo que ambos os tratamentos convencionais. Observou-se também que o tratamento com inseticida não diferiu dos demais tratamentos. Os inseticidas não proporcionaram nenhum incremento tanto para o tratamento BT quanto para o convencional no controle da injúria no sabugo, resultados similares foram observados por Viane e Costa (1994). Este fato provavelmente ocorreu devido à limitada capacidade tecnológica para fazer com que os inseticidas atinjam as lagartas no interior das espigas (Viane e Costa 1994; Michelotto et al. 2011). Para injúria nos grãos não foi observado diferença entre os BTs e o convencional com inseticida.

Nas avaliações de ataque nas espigas do milho doce foram identificadas dois grupos de lepidópteros: *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa* spp (figura 8). Em avaliações de campo não foi possível diferenciar as espécies de *Helicoverpa zea* e *H. armigera*, desta forma, consideradas neste estudo como *Helicoverpa* spp (figura 10). A infestação de *Helicoverpa* spp nas espigas foi três vezes maior que a de *S. frugiperda*, supostamente a infestação desta praga foi muito maior nesta fase da cultura, culminando em sua predominância. Nesta avaliação também foi encontrada uma espécie de Díptero (Otitidae, *Euxesta* spp) alimentando-se dos grãos de milho. Apesar desta praga não ter sido objeto do nosso estudo, é importante ressaltar que poderia existir correlação entre o

ataque de lepidópteros praga e a infestação de *Euxesta* spp, já que este Diptero é oportunista e utiliza a injúria das lagartas para se estabelecer nas espigas.

Em ambos os tratamentos com a tecnologia BT foram observados controle de lagartas significativamente maior quando comparados com os tratamentos convencionais, corroborando desta forma com os dados encontrados por Fernandes et al. (2003). Não foi encontrada nenhuma lagarta de *S. frugiperda* nas espigas do milho doce BT em nenhuma das épocas avaliadas, evento tal que poderia estar relacionado com a eficácia das protoxinas expressadas no milho BT (Fernandes et al. 2003).

Nas avaliações de produtividade final observou-se que não há diferença estatística na produtividade de espigas com palha em ambas as épocas (tabela 4), ou seja, o rendimento bruto no campo não foi alterado pelos tratamentos realizados. Porém quando se analisa os dados de espigas sem palha, ambos os tratamentos BT são superiores aos convencionais sem inseticida nas duas épocas de semeadura, mas não diferiram do convencional com inseticida. Este fato está relacionado com o maior controle das injúrias nos tratamentos BT e nos convencionais com inseticidas, corroborando os resultados de Wiatrak et al. (2004). Para a primeira época de semeadura, devido a maior infestação de pragas o inseticida não agregou maior produtividade quando comparamos os tratamentos convencionais com e sem inseticidas (tabela 4). Já para a segunda época, com infestação menor de pragas, houve diferença significativa para o inseticida no tratamento convencional. Resultados similares foram observados em experimentos realizados por Viana e Costa (1994) e Buntin et. al. (2000) e Wiatrak et al. (2004), onde os inseticidas agregavam produtividade.

Em relação ao parâmetro diâmetro das espigas sem palha houve diferença significativa apenas quando compara-se os dados de BT sem inseticida com o convencional sem inseticida, na qual as espigas das plantas BT apresentaram um diâmetro significativamente maior (tabela 4). Este diâmetro maior e a menor variação entre as espigas é uma característica desejável pela indústria de milho doce enlatado, já que otimiza a degrana e maximiza o aproveitamento dos grãos, reduzindo as perdas de espigas na degranadora (Souza et al. 2013). Para a segunda época não houve diferença entre os tratamentos com relação a este parâmetro. Quanto ao comprimento das espigas sem palha foi observado que ambos os tratamentos BT e o convencional com inseticida não diferiram entre si, porém as espigas das plantas BT com e BT sem inseticidas são significativamente mais compridas que aquelas advindas do convencional sem inseticidas, para ambas as épocas (tabela 4).

Quando se analisa os dados de precipitação pluviométrica dos períodos do experimento, observa-se muita irregularidade nas chuvas na primeira época de plantio (figura 11). Através da análise entre o padrão de chuva e época de desenvolvimento, é possível observar que o déficit hídrico que se iniciou no estágio V4 e apesar de pequenas precipitações (10 a 15 mm) durante o ciclo, só foram normalizados em R2. O estágio mais crítico foi de V14 a R2, onde o milho passou vários dias com sintomas visíveis de murcha durante os horários mais quentes do dia, ou seja, das 11 às 17 horas. Para a segunda época (figura 5) do experimento a precipitação regularizou após V6, mantendo-se com boa distribuição pluviométrica (não sendo observado stress) durante todo o ciclo do milho doce até a colheita, estes eventos justificam as diferenças de resultados entre a primeira e a segunda época na fase vegetativa e início do reprodutivo Waquil et al. (2002).

Os resultados obtidos mostraram que o milho doce BT é uma ferramenta útil para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo mediar uma redução significativa das injúrias causadas por insetos praga da ordem Lepidóptera. Esses resultados foram ainda mais expressivos para as injúrias que ocorrem nas espigas. Além disso, o menor número de lepidópteros observados em plantios de milho doce BT pode resultar em uma reduzida frequência da aplicação de inseticidas. Por fim, uma redução na aplicação de inseticidas nos cultivos BT, especialmente de amplo espectro, poderia também favorecer o estabelecimento de inimigos naturais (predadores e parasitoides) que atacam insetos pragas devido ao efeito não-alvo reduzido.

6. CONCLUSÕES

O milho doce BT testado reduz significativamente a injúria de *S. frugiperda* nos estádios vegetativos e reprodutivo do milho independente do uso de inseticidas.

Os inseticidas reduziram a injúria de *S. frugiperda* no estágio vegetativo, porém não houve diferença no estágio reprodutivo do milho doce para nenhuma das pragas testadas.

Os tratamentos com milho doce BT reduz significativamente os danos de *S. frugiperda* e *Helicoverpa* spp na espiga do milho.

O milho doce BT é significativamente mais produtivo que o convencional sem inseticida em ambas as épocas testadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A.; CHOUDHURY, R. A. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. *Tunisian Journal of Plant Protection*, v. 4, n. 1, 2009.
- ANDREWS, K.L Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae). *Florida Entomologist*, V71, n4, p630-653, 1988.
- ANGELO E. A.; VILAS BOAS T.G.; GOMEZ R.J.H.C.; *Bacillus thuringiensis*: general characteristics and fermentation; *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 4, p. 945-958, out./dez. 2010.
- AN, G.; MITRA, A.; HONG, K. C.; COSTA, M. A.; NA, K.; THORNBURG, R. W.; RYAN, C. A. Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible proteinase inhibitor II gene. *Plant Cell*, Rockville, v. 1, p. 115-122, 1989.
- ARAGÃO, C.A. Avaliação de híbridos simples braquiúcticos de milho super doce (*Zea mays* L.) portadores do gene *shrunken--2* (*sh2sh2*) utilizando o esquema dialélico parcial. *Botucatu*, 2002, 101p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônomicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- ARAGÃO, C.A.; DANTAS, B.F.; ALVES, E.; CATANEO, A.C.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA, J. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes*, v.25, n.1, p.43-48, 2003.
- ARAÚJO, E.F.; CORRÊA, P.C.; SILVA, R.F. Comparação de modelos matemáticos para descrição das curvas de dessecção de sementes de milho-doce. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.36, n.7, p.991-995, 2001.
- ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R.F. Maturação de sementes de milho-doce – grupo super doce. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 28, n. 2, p.69-76, 2006a.
- ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R.F. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce colhidas em diferentes épocas. *Bragantia*, Campinas, v.65, n.4, p. 687-692, 2006b.
- ARMSTRONG, C. L.; GREEN, C. E. Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and the involvement of L-proline. *Planta*, New York, v. 164, n. 2, p. 207-214, 1985.
- ARMSTRONG, C. L.; GREEN, C. E.; PHILLIPS, R. L. Development and availability of germplasm with high type II culture formation response. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, Columbia, v. 65, p. 92-93, 1991.
- ASHLEY, T.R; WISEMAN, B.R. DAVIS, F.M; ANDREWS, K.L. The fall armyworm; a bibliography. *Florida Entomologist*, v72, n1. 1989.

- BARBIERI, V.H. B.; LUZ, J.M.Q.; BRITO, C.H. de; DUARTE, J.M.; GOMES, L.S.; SANTANA, D.G. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamento e populações de plantas. *Hortic. Bras.*, Brasília, v.23, n.3, p. 826-830, 2005.
- BAUM, A. B.; JOHNSON, T. B.; CARLTON, B. C. *Bacillus thuringiensis*: natural and recombinant biopesticide products. In: HALL, F. R.; MENN, J. J. (Ed.). *Methods in biotechnology: biopesticides: use and delivery*. Totowa: Humana Press, 1999.
- BEVAN, M. W. Binary agrobacterium tumefaciens vectors for plant transformation. *Nucleic Acids Research*, London, v. 12, p.8711-8721, 1984.
- BOHOROVA, N. E.; LUNA, B.; BRITO, R. M.; HUERTA, L. D.; HOISINGTON, D. A. Regeneration potential of tropical, subtropical, midaltitude, and highland maize inbreds. *Maydica*, Bergamo, v. 40, p. 275-281, 1995.
- BOUCHEZ, A.; HOSPITAL, F.; CAUSSE, M.; GALLAIS, A.; CHARCOSSET, A. Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. *Genetics*, Maryland, v. 162, p. 1945-1959, 2002.
- BOUCIAS, D. G.; PEDLAND, J. C. *Principles of insect pathology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 537 p.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). *Biochemistry and molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.
- BOMMIREDDY, P. L., B. R. LEONARD and K. EMFINGER. Arthropod Management and Applied Ecology. *Journal of Cotton Science*. 11:199, 2007.
- BORDALLO, P.N.; PEREIRA, M.G.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; GABRIEL, A.P.C. Análise dialéctica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Hort. Bras.*, Brasília, v.23, n.1, p.123-127, 2005.
- BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PENA, G.; NUÑEZ-VALDEZ, M.; SOBERON, M.; QUINTERO, R. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strains collection. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 64, p. 4965-4972, 1998.
- BRETTSCHEIDER, R.; BECKER, D.; LORZ, H. Efficient transformation of scutellar tissue of immature maize embryos. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 94, p. 737-748, 1997.
- BROOKES, G. The farm level impact of using Bt maize in Spain. In: *International Conference on Public Goods and Public Policy for Agricultural Biotechnology*, 7., International Consortium on Agricultural Biotechnology Research (ICABR). Ravello (Italy), July 2003.
- BUNTIN, G.D, LEE R.D. WILSON, D.M. and MCPHERSON, R.M. Evaluation of yieldgard transgenic resistance for control of fall armyworm and corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on corn Fla. *Entomol.* 84 :37-42. 2000.

- BURKNESS, E.C. HUTCHISON, W.D. BOLIN, P.C. BARTELS, D.W. WARNOCK, D.F. DAVIS, D. W. Field efficacy of sweet corn hybrids expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin for management of *Ostrinia nubilalis* and *Helicoverpa zea*. J Econ Entomology Feb. 2001.
- CAMBELL, C. H.; GOWRI, G. Codon usage in higher plants, green algae, and cyanobacteria. Plant Physiology, Bethesda, v. 92, p. 1-11, 1990.
- CAPINERA J. L. ; Corn Earworm, *Helicoverpa (=Heliothis) zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) Department of Agriculture, UF/IFAS Extension Service, University of Florida, IFAS 2014.
- CARNEIRO A.A.; GUIMARÃES C.T.; VALICENTE F.H.; WAQUIL M.J. Milho Bt: Teoria e Prática da Produção de Plantas Transgênicas Resistentes a Insetos-Praga, Circular Técnica 135. Sete Lagoas. 2009
- CAROZZI, N. B.; KRAMER, V. C.; WARREN, G. W.; EVOLA, S.; KOZIEL, M. G. Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 57, n. 11, p. 3057-3061, 1991.
- CARVALHO, R.P.L . Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* e suscetibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Piracicaba ESALQ. 1970.
- CARVALHO, C. H. S.; BOHOROVA, N. E.; BORDALL, P. N.; ABREU, L. L.; VALICENTE, F. H.; BRESSAN, W.; PAIVA, E. Type-II callus production and plant regeneration in tropical maize genotypes. Plant Cell Reports, New York, v. 17, p. 73-76, 1994.
- CERÓN, J.; COVARRUBIAS, L.; QUINTERO, R.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; ARANDA, E.; LINA, L.; BRAVO, A. PCR analysis of the cryI insecticidal crystal family genes from *Bacillus thuringiensis*. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 60, p. 353-356, 1994.
- CERÓN, J.; ORTIZ, A.; QUINTERO, R.; GÜERECA, I.; BRAVO, A. Specific PCR primers directed to identify cryI and cryIII genes within *Bacillus thuringiensis* strain collection. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v. 61, n. 11, p. 3826-3831, 1995.
- CHEN, L.; MARMEY, P.; TAYLOR, N.; BRIZARD, J. P.; ESPINOZA, S.; D'CRUZ, P.; HUET, H.; ZHANG, S.; DE KOCHCO, A.; BEACHY, R.; FAUQUET, C. Expression and inheritance of multiple transgenes in rice plants. Nature Biotechnology, New York, v. 16, p. 1060-1064, 1998.
- CHILCUTT C.F. Cannibalism of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from *Bacillus thuringiensis* (Bt) Transgenic Corn Versus Non-Bt Corn. Journal of Economic Entomology. 728-732. 1996
- CHRISTENSEN, A. H.; QUAIL, P. H. Ubiquitin promoter-based vectors for high-level expression of selectable and/or screenable marker genes in monocotyledonous plants. Transgenic Research, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 213-218, 2005.

- CHRISTENSEN, A. H.; SHARROCK, R. A.; QUAIL, P. H. Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology*, Dordrecht, v. 18, p. 675-689, 1992.
- CRUZ, I. Manejo de pragas na cultura do milho. In: *Seminário Sobre a Cultura do Milho Safrinha*. 5., Barretos. 1999.
- CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Efeitos da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v17, n3. 1982.
- CRUZ, I. ; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Pragas. In: CRUZ, J. C. (Ed. Tec.). *Cultivo do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. (Sistema de Produção, 1). 7. ed. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_7_ed/pragas.htm>. Acesso em: 15 mar. 2014.
- CRUZ, J.C.; PEREIRA FILHO, I.A. Manejo e tratos culturais para o cultivo do milho verde. *Circular Técnica*, n.16. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, p.1-9, Jan., 2002.
- CTNbio - COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANA. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0001/1801.pdf> acesso em 9 jan 2014
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013.
- DAVIS, F.M.; NG, S.S.; WILLIAMS, W.P. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi: Mississippi State University, 1992. 9p.
- DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P.; CHANG, Y.M; BAKER, G.T.; HEDIN, P.A; Differential growth of fall armyworm larval (Lepidoptera; Noctuidae) reared on three phenotypic regions of whorl leaves from a resistant and a susceptible maize hybrid. *Florida Entomologist*, V82, n, 2, 1999.
- DE BLOCK, M.; BOTTERMAN, J.; VANDEWIELE, M.; DOCKX, J.; THOEN, C.; GOSSELÉ, V.; MOVVA, N. R.; THOMPSON, C.; VAN MONTAGU, M.; LEEMANS, J. Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *Embo Journal*, Oxford, v. 9, p. 2513-2518, 1987.
- DE BLOCK, M.; DE BROWER, D.; TENNING, P. Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the bar and neo genes in the transgenic plants. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 91, p. 694-701, 1989.
- DEPICKER, A.; STACHEL, S.; DHAESE, P.; ZAMBRYSHI, P.; GOODMAN, H. M. Nopaline synthase, transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics*, v. 1, n. 6, p. 561-573, 1982.

- DIEHN, S. H.; CHIU, W. L.; DE ROCKER, E. J.; GREEN, P. J. Prematuration polyadenilation at multiple sites within a *Bacillus thuringiensis* toxin gene-coding region. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 117, p. 1433-1443, 1998.
- DUNCAN, D. R.; WILLIAMS, M. E.; ZEHR, B. E.; WIDHOLM, J. M. The production of callus capable of plant regeneration from immature embryos of numerous *Zea mays* plants. *Bio/Technologie*, v. 8, p. 833-839, 1985.
- EMBRAPA - BRASIL. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fy779fnk02wx5ok0pvo4k3wpdjd8h.html>. acesso em 12 janeiro de 2014.
- EMBRAPA - BRASIL. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Nota técnica sobre resultado do trabalho inicial de levantamento da lagarta do gênero *Helicoverpa* – detecção da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil. Nota técnica de 22 de março de 2013. Embrapa Cerrados, Planaltina DF, 2013, 2 p.
- EMBRAPA MILHO E SORGO. Sistemas de Produção, 2. Versão eletrônica - 5ª edição Set./2009. Disponível em: http://www.cnpmis.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/index.htm: Acesso em: 30 jan. 2016
- ESTRUCH, J. J., G. W. WARREN, M. A. MULLINS, G. J NYE, J. A. CRAIG, and M. G. KOZIEL. Nye, J. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proc. Natl. Academic Science*. Acesso em <http://aem.asm.org/content/63/2/532> em março de 2016.
- ESTRUCH, J. J.; WARREN, G. W.; MULLINS, M. A.; NYE, G. J.; CRAIG, J. A.; KOZIEL, M. G. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 93, n. 11, 1996.
- FERNANDES, O.D.; PARRA, J.R.P.; F. NETO, A.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A.F.; DEMÉTRIO, C.G.B. Efeito do milho geneticamente modificado mon810 sobre a lagarta - do - cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.2, p.25-35, 2003.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. *FAOSTAT*. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 6 novembro. 2014.
- FORNASIERI FILHO, D.; CASTELLANE, P.D.; DECARO, S. Competição de cultivares de milho doce. *Hort. Bras.*, v.6, p.20-22, 1988.
- FORNASIERI FILHO, D. A cultura do milho. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 273p.

- FRAME, B. R.; SHOU, H.; CHIKWAMBA, R. K.; ZHANG, Z.; XIANG, C.; FONGER, T. M.; PEGG, E. K.; LI, B.; NETTLETON, D. S.; PEI, D.; WANG, K. *Agrobacterium tumefaciens*- mediated transformation of maize embryos using a standard binary vector system. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 129, p. 13-22, 2002.
- FRAME, B.; ZHANG, H.; COCCIOLONE, S.; SIDORENKO, L.; DIETRICH, C.; PEGG, S.; ZHEN, S.; SCHNABLE, P.; WANG, K. Production of transgenic maize from bombarded Type II callus: effect of gold particle size and callus morphology on transformation efficiency. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, Columbia, v. 36, p. 21-29, 2000.
- FRISCH, M.; BOHN, M.; MELCHINGER, A. E. Minimum sample size and optimal positioning of flanking markers in marker-assisted backcrossing for transfer of a target gene. *Crop Science*, Madison, v. 39, p. 967-975, 1999.
- FROMM, M. E.; MORRISH, F.; ARMSTRONG, A.; WILLIAMS, R.; THOMAS, J.; KLEIN, T. M. Inheritance and expression of chimeric genes in the progeny of transgenic maize plants. *Nature Biotechnology*, New York, v. 8, n. 9, p. 833-839, 1990.
- GALLO, O., NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L., BATISTA, G.C., BERTIFILHO, E., PARRA, J. R.P., ZUCCHI, R.A., ALVES, S.B., VENDRAMIN, J.D. *Manual de Entomologia Agrícola*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2. ed., 1988, 649p.
- GAMA, E.E.G.; MORO, J.R.; MAGNAVACA, R.; VIANA, R.T.; NASPOLINI FILHO, V. Melhoramento do milho. In: *Empresa Brasileira de Assistência Técnica e Extensão Rural*. Brasília, EMBRATER, p. 23-38, 1983.
- GAMA, E.E.G.; MORO, J.R.; MAGNAVACA, R.; VIANA, R.T.; NASPOLINI FILHO, V. Melhoramento do milho. In: *Empresa Brasileira de Assistência Técnica e Extensão Rural*. Brasília, EMBRATER, p. 23-38, 2003.
- GASSEN, D.N. Manejo de pragas associadas à cultura do milho. *Passo Fundo: Aldeia Norte*, 1996. 134p
- GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety*. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. 350 p. GELVIN, S. B. *Agrobacterium-mediated plant transformation: the biology behind the "gene-jockeying" tool*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Washington, v. 67, n. 1, p. 16-37, 2003.
- GORDON-KAMM, W.; DILKES, B. P.; LOWE, K.; HOESTER, G.; SUN, X.; ROSS, M.; CHURCH, L.; BUNDE, C.; FARREL, J.; HILL, P.; MADDOCK, S.; SNYDER, J.; SYKES, L.; LI, Z.; WOO, Y.; BIDNEY, D.; LARKINS, B. A. Stimulation of the cell cycle and maize transformation by disruption of the plant retinoblastoma pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 99, n. 18, p. 11975-11980, 2002.

- GORDON-KAMM, W. J.; SPENCER, T. M.; MANGANO, M. L.; ADAMS, T. R.; DAINES, R. J.; START, W. G.; O'BRIEN, J. V.; CHAMBERS, S. A.; ADAMS JR., W. R.; WILLETTS, N. G.; RICHE, T. B.; MACKEY, C. J.; KRUEGER, R. W.; KAUSCH, A. P.; LEMAUX, P. G. Transformation of maize cells and regeneration of fertile transgenic plants. *Plant Cell*, Rockville, v. 2, p. 603-618, 1990.
- GREENWOOD J.; ISAAA - INTERNATIONAL SERVICE FOR THE ACQUISITION OF AGRI-BIOTECH APPLICATION. Disponível em: <http://www.isaaa.org/inbrief/default.asp>. acesso em: 13 setembro 2014.
- GUIMARÃES, C. T.; SOUZA JÚNIOR, C. L.; SCHUSTER, I.; MAGALHÃES, J. V. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. (Ed.). *Marcadores moleculares*. Viçosa: UFV, 2009. p. 129-175.
- GUSTAFSSON, C.; GOVINDARAJAN, S.; MINSHULL, J. Codon bias and heterologous protein expression. *Trends in Biotechnology*, Amsterdam, v. 22, p. 346-353, 2004.
- GUO, Y. Y. Progress in the researches on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. *Acta Entomologica Sinica*, Beijing, v. 40, n. 1, 1997.
- HIEI, Y.; OHTA, S.; KOMARI, T.; KUMASHO, T. Efficient transformation of rice mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of boundaries of the T-DNA. *Plant Journal*, Oxford, v. 6, p. 271-282, 1994.
- HUANG, X.-Q.; WEI Z.-M. High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea Mays* L.). *Plant Cell Reports*, New York, v. 22, n. 11, p. 793-800, 2004.
- HUELSEN, W.A. *Sweet Corn*. New York, Interscience Publishers, 1954. 409p.
- HYDE, J. M.; MARSHALL, A.; PRECKEL, P. V.; EDWARDS, C. R. Bt corn: the adoption implications of economics. West Lafayette: Purdue University, 1999. IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/mapas_doc3.shtm, 2014. Acesso em 14 jan 2016.
- IKEMURA, T. Codon usage and tRNA content in unicellular and multicellular organisms. *Molecular Biology and Evolution*, Oxford, v. 2, p. 13-34, 1985.
- ISHIDA, Y.; HIEI, Y.; KOMARI, T. *Agrobacterium*-mediated transformation of maize. *Nature Protocols*, v. 2, p. 1614-1621, 2007.
- ISHIDA, V.; SAITO, H.; OHTA, S.; HIEI, Y.; KOMARI, T.; KUMASHIRO, T. High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature Biotechnology*, New York, v. 6, p. 745-750, 1996.
- ISENHOOR, D.J.; DAVIS, FM. Dedication of 1998 armyworm symposium to Dr. Billy Ray Wiseman; *Plant resistance expert*. *Florida Entomologist*, v82, n2. 1999.

- ITO, G.M.; BREWBAKER, J.L. Genetic advance through mass selection for tenderness in sweet corn. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, v.106, p.496-449, 1981.
- JARRETT, P.; BURGESS, H. D. Effect of bacterial varieties on the susceptibility of the greater wax moth *Galleria mellonella* to *Bacillus thuringiensis* and its significance in classification of the bacterium. *Entomologia Experimentalis et applicata* Dordrecht, v. 31, n. 4, p. 346-352 1982
- JOSHI, C. P. Putative polyadenylation signals in nuclear genes of higher plants: a compilation and analysis. *Nucleic Acids Research*, London, v. 15, n. 23, p. 9627-9640, 1987.
- KLEIN, T.; GRADIZIEL, T.; FROMM, M.; SANFORD, J. Factors influencing gene delivery into *Zea mays* cells by high-velocity microprojectiles. *Bio/Technology*, v. 6, p. 559-563, 1988.
- KLEIN, T. M.; WOLF, E. D.; WU, R.; SANFORD, J. C. High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature*, London
- KOZIEL, M. G.; BELAND, G. L.; BOWMAN, C.; CAROZZI, N. B.; CRENSHAW, R.; CROSSLAND, L.; DAWSON, J.; DESAI, N.; HILL, M.; KADWELL, S.; LAUNIS, K.; LEWIS, K.; MADDOX, D.; MCPHERSON, K.; MEGHJI, M.; MERLIN, E.; RHODES, R.; WARREN, G.; WRIGH, M.; EVOLA, S. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technology*, v. 11, p. 194-200, 1993.
- KUROZAWA, C. Glossário. *Globo Rural*, disponível em <<http://globoruralteve.globo.com/GRural/0,27062,LPTO-4373-0-L-M,00.html>>, acesso em: 20 agosto 2014.
- LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808). 2007. Disponível em: <<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2014.
- LEE, M. K.; CURTISS, A.; ALCANTARA, E. A.; DEAN, D. H. Synergistic effect of the *Bacillus thuringiensis* toxins CryIAa and CryIAc on the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v 62, 1996.
- LESSARD, P. A.; KULAVEERASINGAM, H.; YORK, G. M.; STRONG, A.; SINSKEY, A. J. Manipulating gene expression for the metabolic engineering of plants. *Metabolic Engineering*, v. 4, p. 67-79, 2002.
- LIU, D. Design of gene constructs for transgenic maize. In: SCOTT, M. P. (Ed.). *Methods in molecular biology: transgenic maize*. Totowa: Humana, 2009. p. 3-20.
- LEIDERMAN, I.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda*. *O Biológico*, v19, n6 1953.
- LEMOS, M. A.; GAMA, E. E. G.; MENEZES, D.; SANTOS, V. F.; TABOSA, J. N.; MORAIS, M. S. L. Emergência em campo de híbridos simples de milho superdoce de um cruzamento dialélico. *Hortic. Bras.*, Brasília, v.20, n.2, p.158-162, 2002.

- LOGUERCIO L. L.; CARNEIRO N. P.; CARNEIRO A. A.; Milho Bt. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - nº 24- janeiro/fevereiro 2002.
- LUPOTTO, E. In vitro culture of isolated somatic embryos of maize (*Zea mays* L.) *Maydica*, Bergamo, v. 31, p. 193-201, 1986.
- LUPOTTO, E.; CONTI, E.; REALI, A.; LANZANOVA, C.; BALDONI, E.; ALLEGRI, L. Improving in vitro culture and regeneration conditions for Agrobacterium-mediated maize transformation. *Maydica*, Bergamo, v. 49, p. 221-229, 2004.
- LYNCH, R.E.; WISEMAN, B.R.; PLAISTED, D. Evaluation of transgenic sweet corn hybrids expressing CryIA toxin for resistance to corn earworm and fall armyworm. *Jornal Econ Entomology*. Feb. 1999.
- MACHADO, J.A. Melhoramento genético do milho doce (*Zea mays* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 1980. 78p. (Tese M.S.).
- MAGALHÃES, M. T. Q. Toxinas Cry. Perspectivas para Obtenção de Algodão Transgênico Brasileiro. Tese de Mestrado. Abril de 2006. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. P 23 – 45, 2006.
- MANDDONNI, G. A. Analysis of the climatic constraints to maize production in the current agricultural region of Argentina—a probabilistic approach Buenos Aires. Springer -Verlag. 2011.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/combatehelicoverpa>>. acesso em 9 janeiro de 2014.
- MAREDA, K. M. Sustaining host plant resistance derived through conventional and biotechnological means. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF INSECT RESISTANT MAIZE: Recent advances and utilization, 1994, Mexico. Proceedings Mexico: CIMMYT, 1997.
- MENSAH, R. K. Supression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast. *Australian Journal of Entomology*, Canberra, v. 35, n. 4, Nov. 1996.
- MENDES S. M.; WAQUIL J. M.; VIANA. P. A.; Manejo Integrado de pragas em lavouras plantadas com milho geneticamente modificado com gene bt (Milho Bt). Sistema de produção. Embrapa. 5 edição. 2009.
- MENDES, S.M.; RESENDE, D. C.; LEITE, N. A. ; OLIVEIRA F. S.; Avaliação de variáveis comportamentais como metodologia para estudo de organismos não alvo em milho Bt. Circular Técnica 185. Sete Lagoas. 2012.
- MESQUITA, A. G. G.; GUIMARÃES, C. T.; PARENTONI, S. N.; PAIVA, E. Recuperação do genitor recorrente em milho utilizando retrocruzamento assistido por marcadores microssatélites. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 4, p. 253-260, 2005.

- MICHAEL, T.E.; ANDREW, R.H. Sugar accumulation in shrunken-2 sweet corn kernels. *Crop Sci.*, v.26, p.104-107, 1986.
- MICHELOTTO, M.D.; FINOTO, E.L.; MARTINS, A.L.M.; DUARTE, A.P. Interação entre transgênicos (*Bt*) e inseticidas no controle de pragas-chave em híbridos de milho-safrinha. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.78, p.71-79, 2011.
- MING WU, K. HUI LU, Y. QIANG FENG, H. YING JIANG, Y. ZHOU ZHAO, J. Suppression of Cotton Bollworm in Multiple Crops in China in Areas with Bt Toxin – Containing cotton. *SCIENCE, China*, V. 321, p. 1676-1678, 2008.
- MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. Manuseio pós-colheita de milho doce. In: PEREIRA FILHO, I. A. (Ed.). *O cultivo do milho-verde*. Brasília: Embrapa, 2003. cap.12, p.195-204.
- MORRIS, M.; DREHER, K.; RIBAUT, J. M.; KHAIRALLAH, M. Money matters (II): costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection. *Molecular Breeding*, Dordrecht, v. 11, p. 235-247, 2003.
- MURRAY, E. E.; LOTZER, J.; EBERLE, M. mRNA transcript of several plant genes are polyadenylated at multiple sites in vivo. *Nucleic Acids Research*, London, v. 14, p. 2229-2240, 1989.
- NOVAK, F. J.; DOLEZELOVA, M.; NESTICKY, M.; PIOVARIC, A. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Zea mays* L. *Maydica*, Bergamo, v. 23, p. 381-390, 1983.
- ODELL, J. T.; NAGY, F.; CHUA, N.-H. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, London, v. 313, p. 810-812, 1985.
- OHME-TAKAGI, M.; TAYLOR, C. B.; NEWMAN, T. C.; GREEN, P. The effect of sequences with high AU content on mRNA stability in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 90, p. 11811-11815, 1993.
- OLIVEIRA JUNIOR, L.F.G.; DELIZA, R.; BRESSAN-SMITH, R.; PEREIRA, M.G.; CHIQUIERE, T.B. Seleção de genótipos de milho mais promissores para o consumo in natura. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.26, n.1, p. 159-165, jan.-mar., 2006.
- OLIVEIRA JÚNIOR, L.F.G; SMITH, R. E. B.; REIS, F. O.; CAMPOSTRINI, O.; PEREIRA, M. G. *Diferenças fisiológicas* entre genótipos de milho doce (su-1) e milho comum durante o desenvolvimento. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 351-356, 2007.
- OPENSHAW, S. J.; JARBOE, S. G.; BEAVIS, W. D. Marker-assisted selection in backcross breeding. In: *ASHS/CSSA JOINT PLANT BREEDING SYMPOSIUM*, 2., 1994, Corvallis. *Proceedings...* Corvallis: Oregon State University, 1994.

- PAIVA, E.; VASCONCELOS, M.J.V.; PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R. Seleção de progênies de milho doce de alto valor nutritivo com auxílio de técnicas eletroforéticas. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.27, 1992.
- PAIVA JUNIOR, M.C. Desempenho de diferentes cultivares para milho verde em diferentes épocas e densidade de semeadura. 1990. 66 f. Dissertação, (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.
- PARENTONI, S.N.; GAMA, E.E.G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; VILLAS BOAS, G.L. Milho doce. *Informe Agropecuário*, v.14, p.17-22, 1990.
- PASSOA, S., Color indentification of economically important Spodoptera larvae in Honduras (Lepidoptera. Noctuidae) *Insecta Mundi*, Paper 414, 1991.
- PEDROTTI, A.; HOLANDA, F.S.R.; MANN, E.N.; AGUIAR NETTO, A.O.; BARRETO, M.C.V.; VIEGAS, P.R.A. Parâmetros de produção do milho-doce em sistemas de cultivo e sucessão de culturas no Tabuleiro Costeiro Sergipano. In:
- SEMINÁRIO DE PESQUISA FAP-SE, Sergipe. Anais... Sergipe: FAP, 2003.
- PEREIRA FILHO, I.A.; CRUZ, J.C. Cultivares de milho para o consumo verde. *Circular Técnica*, n.15. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, p.1-7, Jan., 2002
- PEREIRA FILHO, I.A.; CRUZ, J.C.; GAMA, E.E.G. Cultivares para o consumo verde. In: PEREIRA FILHO, I.A. (Ed.). *O cultivo do milho verde*. Brasília: Embrapa, 2003.
- PEREIRA FILHO I. A.; CRUZ J. C.; COSTA R.V. *Árvore do conhecimento milho*. <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/milho/arvore/CONT000fy779fnk02wx5ok0pvo4k3wpdjd8h.html>. 2014. acesso 16 jan 2015
- PERLAK, F. J.; FUCHS, R. L.; DEAN, D. A.; MCPHERSON, S. L.; FISHHOLFF, D. A. Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 88, p. 3324-3328, 1991.
- POGUE, M. G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae). *Annals of the Entomological Society of America*, Lexington, v. 97, n. 6, 2004.
- POLATO, S. A.; OLIVEIRA, N. C. Eficiência do controle de lagarta-do-cartucho na cultura do milho em função de diferentes horários de aplicação de inseticida. *Campo Digit@l*, v.6, n.1, p.44-53, 2011.
- PREFEITURA DE MORRINHOS- GO, http://morrinhos.go.gov.br/site/doc_5.shtm, acesso 15 jan de 2015.

- SAWAZAKI, E.; ISHIMURA, I.; ROSSETO, C.J.; MAEDA, J.A.; SÁES, L.A. Milho verde: Avaliação da resistência à lagarta da espiga, da espessura do pericarpo e outras características agronômicas. *Bragantia*, Campinas, v.49, p.241-251, 1990.
- SCAPIM, C.A.; CRUZ, C.D.; ARAÚJO, J.M. Cruzamentos dialélicos entre sete cultivares de milho doce. *Hortic. Bras.*, Brasília, v.13, n.1, p.19-21. 1995.
- SOUZA, R.S, VIDIGAL F. P. S, SCAPIM, C. A, MARQUES, O. J, QUEIROZ, D. C, CORTINOVE, V. B, Produtividade e qualidade do milho doce em diferentes populações de plantas. *Semina. Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 995-1010, maio/jun. 2013.
- STORCK, L.; LOVATO, C.; COMASSETTO, V. Avaliação do rendimento e outras características agronômicas de cultivares de milho doce. *R. Cent. Ci. Rur.*, v.14, p.153-160, 1984.
- TEIXEIRA, F.F.; SOUZA, I.R.P.; GAMA, E.E.G.; PACHECO, C.A.P; PARENTONI, S.N.; SANTOS, M. X.; MEIRELLES, W. F. Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v.25,n.3, 2001.
- TOJO, A.; AIZAWA, K. Dissolution and degradation of *Bacillus thuringiensis* endotoxin by gut juice protease of silkworm *Bombyx mori*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 45, p. 576-580, 1983.
- TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: PATERNIANI, E. Melhoramento e produção do milho no Brasil. Campinas: Fundação Cargill, 1978.
- TRACY, W.F.; CHANDRAVADANA, P.; GALINAT, W.C. More on pericarp and aleurone thickness in maize and its relatives. *Maize Genet. Coop. News Lett.*, v.52, p.60-62, 1978.
- TRACY, W.F.; JUVIK, J.A. Pericarp thickness of shrunken-2 population of maize selected for improved field emergence. *Crop Sci.*, v.29, p.72-74, 1989.
- TRACY, W.F. Sweet Corn. In: *Specialty Corns*, CRC Press, p. 147-187, 1994.
- TRACY, W.F. Sweet corn. In: HALLAUER, A.R. *Specialty corn*, Boca Raton. p.155-198, 2001.
- TYRELL, D. J.; BULLA JR., L. A.; ANDREWS JR., R. E.; KRAMER, K. J.; DAVIDSON, L. I.; NORDIN, P. Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystals of selected *Bacillus thuringiensis* strains. *Journal of Bacteriology*, Washington, v. 145, 1981.
- USDA - United States Department of Agriculture, Economics, Statistics and Market Information System <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocdo?documentID=1564>. Acesso em 10 – novembro 2015
- VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil: geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 32, n. 4, 2003.

- VIANA, P.A, COSTA, E. F. Avaliação de Inseticidas aplicados em diferentes lâminas de água, via irrigação por aspersão, para o controle de *Helicoverpa zea* e *Euxesta eluta* atacando milho doce. 1994. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/41332/1/Avaliacao-inseticidas-2.pdf>, acesso em 10 – dez-2014.
- WAQUIL, J. M. VILLELA, F. F. FOSTER, J.E. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.1, n.3, p.1-11, 2002.
- WIATRAC, P.J, WRIGHT, D.L, MAROIS, J.J, SPREKEL, R. Corn hybrids for late planting in the Southeast. Agron J 96:1118–1124, 2004.
- WILLIAMS, W. P.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J.A.; DAVIS, F. M.; BUCKLEY, P. M. Transgenic corn evaluated for resistance to fall armyworm and southwestern corn borer. Crop Science, Madison, v.37, 1997.
- WILLIAMS, W. P.; BUCKLEY, P. M.; SAGERS, J. B.; HANTEN, J. A. Evaluation of transgenic corn for resistance to corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae), fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), and southwestern corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in a laboratory bioassay. Journal of Agricultural Entomology, Clemson, v.15. 1998.
- WISEMAN, B.R. Cumulative effects of antibiosis on Five biological parameters of the fall armyworm. Florida Entomologist, v82, n.2, 1999.
- WU K; GUO Y; NAN L.V; JOHN T; DEATON R; Efficacy of Transgenic Cotton Containing a *cryIAc* Gene from *Bacillus thuringiensis* Against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Northern China. Journal of Economic Entomology. China. v96. n 4. p 1322-1328. 2003.
- YAMAMOTO T. POWELL G. Bacillus thuringiensis crystal proteins: recent advances in understanding its insecticidal activity in; Kim L advance engeneered pesticides Dekker, New York, 1993.
- ZÁRATE, N.A.H.; VIEIRA, M. do C. Produção do milho doce cv. Superdoce em sucessão ao plantio de diferentes cultivares de inhame e adição de cama-de-frango. Hort. Bras. v.21, n.1, Brasília, p.05–09, 2003.