

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

COMPORTAMENTO E DANO DE
Spodoptera frugiperda (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
NO CONSÓRCIO DE MILHO COM *Urochloa ruziziensis*

FILIPPE LEMOS JACQUES

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL

2021

COMPORTAMENTO E DANO DE
***Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**
NO CONSÓRCIO DE MILHO COM *Urochloa ruziziensis*

FILIFE LEMOS JACQUES

Orientador: PROF. DR. PAULO EDUARDO DEGRANDE

Coorientador: DR. JOSÉ BRUNO MALAQUIAS

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

J21c Jacques, Filipe Lemos

COMPORTAMENTO E DANO DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NO CONSÓRCIO DE MILHO COM *Urochloa ruziziensis* [recurso eletrônico] / Filipe Lemos Jacques. -- 2021.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Paulo Eduardo Degrande.

Coorientador: José Bruno Malaquias.

Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Brachiaria. 2. Lagarta-do-cartucho. 3. Manejo de Resistência. 4. Movimento Larval. I. Degrande, Paulo Eduardo. II. Malaquias, José Bruno. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

COMPORTAMENTO E DANO DE
Spodoptera frugiperda (Smith, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
NO CONSÓRCIO DE MILHO COM *Urochloa ruziziensis*

por

Filipe Lemos Jacques

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 27 / 05 / 2021



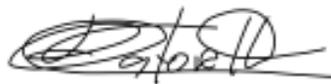
Prof. Dr. Paulo Eduardo Degrande
Orientador – UFGD/FCA



Prof. Dr. Gessi Ceccon
UFGD/FCA



Prof. Dr. Marco Antonio Tamai
UNEB



Dr. Julio César Fatoresso
Syngenta



Dr. José Bruno Malaquias
Coorientador – UNESP/FAPESP

**À minha família, em especial à minha esposa Hagata
e à minha filha Bárbara
que participaram de todas as etapas que
me direcionaram para a finalização deste curso
Dedico**

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, prof. Dr. Paulo Eduardo Degrande, pela oportunidade de aprender mais e me desenvolver técnica e pessoalmente e, principalmente, pelo exemplo de profissional e pessoa, se tornando uma grande inspiração.

Ao meu coorientador, Dr. José Bruno Malaquias, pela parceria e grandes ensinamentos durante os encontros, ensinando de uma forma leve, não só sobre Estatística e Entomologia, mas também sobre como observar o lado bom da vida.

Ao colega Dr. Evandro Gauer pela amizade e companheirismo durante o curso de doutorado e pela condução dos experimentos em conjunto.

Aos demais colegas do Laboratório de Entomologia Aplicada da UFGD, Ellen Souza, Vinícius Barbosa, Ana Maria Scoton, Matheus Dalla Cort, Mateus Fuchs, Waldênio de Araújo e dona Janete Pezarine, por contribuírem direta e indiretamente com os estudos e experimentos, além de se tornarem grandes amigos nessa jornada e deixando na memória grandes momentos de descontração e amizade.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-graduação em Agronomia e da FAECA por todo o apoio e suporte durante o curso de doutorado.

À minha família e amigos pelo carinho e paciência durante os momentos em que precisei me dedicar a mais aos estudos e eventualmente me ausentei de momentos importantes na história de cada um.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	01
INTRODUÇÃO GERAL.....	02
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	05
CAPÍTULO 1 - Milho Bt e não-Bt consorciado com <i>Urochloa ruziziensis</i> como uma ferramenta para o manejo de resistência de <i>Spodoptera frugiperda</i> (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).....	07
RESUMO.....	07
ABSTRACT.....	08
1. INTRODUÇÃO.....	09
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.1 Experimentos de campo.....	12
2.2 Análise estatística.....	14
2.3 Identificação de biótipo de <i>Spodoptera frugiperda</i>	14
3. RESULTADOS.....	16
3.1 Safra de Verão de 2017/2018.....	17
3.2 Safra de Outono/Inverno de 2018.....	17
3.3 Segunda Safra de Verão (2018/2019).....	17
3.4 Nível de dano de <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
3.5 Identificação molecular dos biótipos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	23
4. DISCUSSÃO.....	25
5. CONCLUSÃO.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
CAPÍTULO 2 - Movimento larval de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) entre plantas de milho e <i>Urochloa ruziziensis</i>	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	40
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3. RESULTADOS.....	45
4. DISCUSSÃO.....	50

5. CONCLUSÃO.....	52
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXOS.....	57

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Fatores de tratamento dos experimentos de campo.....14

Tabela 2. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* por planta de milho (Bt e não-Bt) e *Urochloa ruziziensis* em cultivo solteiro e consorciado nas safras 2017/2018, 2018 e 2018/19. Dourados-MS, Brasil. 2021.....22

Capítulo 2

Tabela 1. Lista de tratamentos do ensaio de movimento larval de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt e *Urochloa ruziziensis*.....44

Tabela 2. Dispersão larval e nível de dano de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt e *Urochloa ruziziensis* em diferentes configurações de plantio.....49

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Representação esquemática das parcelas experimentais; A) milho em cultivo solteiro semeado com espaçamento de 0,9m (tratamento 1- Milho Bt, e tratamento 3 – milho não-Bt), B) Milho consorciado com *Urochloa ruziziensis* semeado com 0,9m entre linhas de milho e 0,45m entre linhas de *U. ruziziensis* (tratamento 2 – milho Bt, tratamento 4 – milho não-Bt, tratamento 6 – *U. ruziziensis*, e tratamento 7 – *U. ruziziensis*); C) *U. ruziziensis* solteira semeada com espaçamento de 0,45m entre linhas (tratamento 5).....13

Figura 2. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt, milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* em cultivo solteiro com seus respectivos tratamentos consorciados na safra de Verão 2017/2018. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.....19

Figura 3. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* no milho Bt , milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* com seus respectivos tratamentos consorciado na safra de Outono-Inverno de 2018. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC 95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.....20

Figura 4. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* em tratamentos de milho Bt, milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* com seus respectivos tratamentos consorciados na safra de Verão de 2018/2019. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC 95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a

média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.....20

Figura 5. Identificação molecular dos biótipos milho e arroz das lagartas de *Spodoptera frugiperda* coletadas nas plantas de milho e *Urochloa ruziziensis* nas safras de Verão de 2017/2018, Outono-Inverno de 2018 e Verão de 2018/2019.....24

Capítulo 2

Figura 1. Unidade experimental para o estudo de movimento larval de *Spodoptera frugiperda* entre plantas de milho e *Urochloa ruziziensis*, consistindo em 49 plantas espaçadas entre si a 17 cm.....43

Figura 2. Scatter plot da distribuição espacial de larvas de *Spodoptera frugiperda* nas parcelas dos seguintes tratamentos: apenas Milho Bt; apenas Milho não-Bt; apenas *U. ruziziensis*; Milho Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); Milho não-Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); *U. ruziziensis* (planta central) + milho Bt (nas adjacências) e *U. ruziziensis* (planta central) + milho não-Bt (nas adjacências).....47

Figura 3 - Boxplot da dispersão (%) de larvas de *Spodoptera frugiperda* nos seguintes tratamentos: apenas Milho Bt; apenas Milho não-Bt; apenas *U. ruziziensis*; Milho Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); Milho não-Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); *U. ruziziensis* (planta central) + milho Bt (nas adjacências) e *U. ruziziensis* (planta central) + milho não-Bt (nas adjacências).....48

RESUMO GERAL

O consórcio de milho de *Urochloa ruziziensis* é de grande importância para as principais regiões agrícolas do Cerrado Brasileiro. Mesmo com os inúmeros benefícios que o sistema agrega aos solos onde são realizados estes cultivos, ainda existem muitos questionamentos com relação ao manejo fitossanitário de pragas que atacam as duas espécies consorciadas. *Spodoptera frugiperda* é a principal praga da cultura do milho e pode alimentar-se também de *Urochloa ruziziensis*. Tal característica da praga pode inviabilizar este tipo de cultivo na utilização de híbridos de milho que expressam proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt), pois poderia contribuir com a evolução da resistência de insetos ao alimentarem-se de pequenas quantidades em plantas de Bt e depois moverem-se para plantas de *U. ruziziensis*. Da mesma forma, insetos maiores que iniciam seu desenvolvimento, poderiam movimentar-se para plantas de milho Bt. Apesar disso, a sobrevivência destes insetos em plantas de *U. ruziziensis* poderia configurar a espécie como refúgio alternativo, contribuindo para a produção de insetos suscetíveis no sistema. Para entender como o comportamento de *S. frugiperda* pode influenciar no manejo da resistência em cultivos de milho Bt, três ensaios de campo foram conduzidos no município de Dourados-MS, objetivando analisar se o consórcio de milho com *U. ruziziensis* poderia favorecer o aumento populacional da praga e se com isso poderia aumentar as injúrias em plantas de milho. Também foram realizados dois experimentos de campo para melhor compreender o padrão de movimentação de lagartas neonatas de *S. frugiperda* em diferentes padrões de plantio, simulando o consórcio de milho e *U. ruziziensis*. Com os ensaios, buscava-se descobrir se as lagartas se dispersavam entre plantas de milho e *U. ruziziensis* e se este comportamento influenciava na sua sobrevivência. Como resultado observou-se que, nos experimentos de campo, o consórcio de milho com *U. ruziziensis* não favoreceu o aumento populacional de *S. frugiperda* e tampouco o nível de injúrias nas plantas de milho ou de *U. ruziziensis*. Nos experimentos de campo foi possível observar que as lagartas se movem entre plantas independente da espécie onde se originaram, e que há uma menor sobrevivência de insetos que se movem a partir de plantas de milho Bt. Assim, foi possível concluir que, desde que atendidos os principais preceitos de manejo de resistência de cultivos Bt, o consórcio de milho com *U. ruziziensis* pode ser utilizado como uma ferramenta no manejo de resistência de *S. frugiperda* em plantas de milho Bt.

Palavras-chave: *Brachiaria*; Lagarta-do-cartucho; Movimento Larval; Manejo de Resistência.

INTRODUÇÃO GERAL

O consórcio de milho com *U. ruziziensis* é uma modalidade de cultivo que tem crescido em adoção nos últimos anos nas principais regiões produtoras das culturas de soja e milho no Brasil.

O principal objetivo deste consórcio é a incrementação de palhada e, conseqüentemente, matéria orgânica, para o sistema de Plantio Direto (KLUTHCOUSKI et al., 2013), principalmente em regiões mais quentes onde a persistência da palhada é menor, em decorrência da rápida decomposição dos restos de cultivos após a colheita. Mas, é possível utilizar a forrageira após a colheita do milho, como pasto para a produção de gado de corte em Sistema de Integração Lavoura-Pecuária. Neste caso, o aproveitamento da forrageira pode ser intensivo até próximo ao plantio da cultura da soja na safra de Verão ou, então, para formação de pastagens perenes que integrem um sistema de rotação de culturas.

Independentemente do objetivo principal, o consórcio de milho e forrageiras trazem inúmeros benefícios aos sistemas de cultivo (CECCON et al., 2013), agregando muitas melhorias principalmente na qualidade dos solos onde são implementados. Dentre os principais benefícios, a melhoria da qualidade físico-química dos solos, aumento e manutenção da microbiota do solo, supressão de plantas daninhas e de alguns fitonematóides. Também, em decorrência do incremento de matéria-orgânica, há um balanço positivo de estoque de Carbono, além de uma maior retenção de água nesses solos, auxiliando em uma maior tolerância a períodos de estiagem, por exemplo, no cultivo de soja em sucessão e diminuindo o impacto de erosão hídrica com a maior cobertura dos solos. Em consequência, há um aumento na produtividade, principalmente na cultura da soja semeada sobre a palhada dessecada da forrageira.

Assim como no Plantio Direto, apesar dos benefícios, a utilização de sistemas conservacionistas impacta diretamente na dinâmica populacional de algumas pragas. Como exemplo, há uma maior sobrevivência de insetos subterrâneos, que podem atacar as raízes das culturas, com o não revolvimento dos solos. Nesse sentido, é importante compreender que, apesar dos benefícios, ainda existem poucas informações a respeito do impacto da utilização de mais de uma planta hospedeira em uma mesma área sobre esta dinâmica populacional de pragas polífagas. Uma destas pragas é a lagarta-do-cartucho-do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1798) (Lepidoptera: Noctuidae).

Spodoptera frugiperda é a principal praga dos cultivos de milho na América Latina e causa muitos prejuízos, podendo até inviabilizar a produção caso não controlada. Além disso, é uma praga polífaga que tem como hospedeiro mais de 300 espécies de plantas, dentre elas as principais culturas de importância econômica no Brasil (soja, milho e algodão), além de espécies de pastagens (como as do gênero *Brachiaria/Urochloa*) e também plantas invasoras (MONTEZANO et al., 2018). Ainda existem dúvidas, se o consórcio utilizando dois hospedeiros da praga poderia favorecer o seu aumento populacional na área e, assim, aumentar seu impacto negativo na cultura do milho.

O principal método de controle desta praga na cultura do milho têm sido a utilização de cultivares híbridos que expressam em seus tecidos toxinas de Bt (*Bacillus thuringiensis*). A utilização de plantas Bt acarretou numa grande diminuição do uso de inseticidas químicos para o controle da *S. frugiperda*, contribuindo para a sobrevivência de organismos benéficos e menor contaminação ambiental. Entretanto, já existem relatos da evolução de resistência deste inseto às principais tecnologias de Bt disponíveis no mercado (OMOTO et al., 2016; FARIAS et al., 2014; MURÚA et al., 2019; NIU et al., 2016; MURARO et al., 2019).

A proteína Vip3Aa20 é uma das poucas que ainda apresentam um controle eficiente da *S. frugiperda* (SCOTON et al., 2020), necessitando, assim, urgentemente de um manejo da resistência para a manutenção do seu controle eficiente. A utilização de áreas de refúgio em cultivos de Bt é importante para a produção de insetos suscetíveis (heterozigotos) para acasalar com possíveis sobreviventes resistentes (homozigotos recessivos) e diminuir assim a frequência de insetos resistentes dessas populações, aumentando a longevidade da tecnologia. Nesse sentido, a *U. ruziziensis* cultivada em consórcio com o milho Bt poderia ser caracterizada como um refúgio alternativo, desde que atenda requisitos necessários para a produção de insetos suscetíveis na área, como não potencializar a sobrevivência de indivíduos heterozigotos (com gene de resistência) em relação aos suscetíveis e produzir adultos em sincronia com adultos que emergirem da cultura Bt (potenciais resistentes).

Por se tratar de uma praga com alta dispersão entre plantas, o consórcio de milho e *U. ruziziensis* pode interferir no manejo da resistência de híbridos que expressam Vip3Aa20, por possibilitar o movimento de lagartas para plantas de *U. ruziziensis* após ingerirem poucas quantidades de toxinas Bt não suficientes para causar a mortalidade destes indivíduos, possibilitando sua sobrevivência e contribuindo para a evolução da resistência.

Neste trabalho, foram estudados os comportamentos da praga no sistema de consórcio de milho Bt e não-Bt com *U. ruziziensis*, visando elucidar se este sistema poderia ou não favorecer o aumento populacional de *S. frugiperda* na área e, com isso, aumentar os danos em plantas de milho, como questionado por alguns produtores que ainda são resistentes à utilização desta tecnologia. Como resultado, nas três safras estudadas a presença da *U. ruziziensis* não favoreceu o aumento populacional da praga na área e não houve um aumento no dano em plantas de milho.

Outra característica de *S. frugiperda* que pode influenciar negativamente a produção de insetos suscetíveis pela *U. ruziziensis* como refúgio alternativo é a existência de dois diferentes biótipos, denominados de *biótipo milho* e *biótipo arroz*. Entre os bióticos, existem diferenças fisiológicas e comportamentais que interferem na reprodução entre eles, como incompatibilidade temporal de cópula e diferenças nos feromônios sexuais. O biótipo milho tem preferência por plantas de milho e sorgo e o biótipo arroz por plantas de milho e algumas espécies de forrageiras.

Neste trabalho foram analisadas molecularmente lagartas de *S. frugiperda* coletadas tanto nas plantas de milho como nas plantas de *U. ruziziensis* em 3 safras para identificar quais os biótipos estavam presentes nestas espécies de plantas. O biótipo milho foi o mais encontrado tanto em milho como em *U. ruziziensis*. O biótipo arroz também foi detectado, porém em poucos espécimes de insetos coletados tanto em milho como na forrageira.

Também foi estudado o movimento larval da praga em diferentes padrões de plantio de milho Bt e não-Bt com a *U. ruziziensis*. O objetivo destes experimentos foi entender como o movimento das lagartas pode afetar a sobrevivência destes insetos no sistema de consórcio, principalmente nos cultivos com milho Bt. O entendimento do comportamento destes insetos auxilia em estudos que envolvem o manejo da resistência, tendo em vista que a alta dispersão das lagartas de *S. frugiperda* inviabiliza a utilização da técnica de “refúgio no saco” (*RIB*[®]) no Brasil. O *RIB*[®] consiste na incorporação de sementes de milho não-Bt em sacos de semente de milho Bt na mesma proporção da recomendação do refúgio estruturado (10%). Da mesma forma, o consórcio de milho Bt com *U. ruziziensis* pode configurar um refúgio semelhante ao *RIB*[®], apesar da proporção de plantas não-Bt ser expressivamente maior.

Encontramos como resultado que o movimento larval ocorre independentemente da planta onde as lagartas neonatas eclodem (milho ou *U. ruziziensis*). Contudo, mesmo iniciando a alimentação em plantas Bt e depois movimentando-se para plantas não-Bt, a sobrevivência

desses insetos foi menor quando comparados a milho não-Bt, demonstrando a eficiência de controle da praga dada pela proteína Vip3Aa20.

Com esta pesquisa, foi possível gerar informação científica para suportar estratégias de manejo da resistência de *S. frugiperda* e entender o sistema de consórcio de milho com *U. ruziziensis*; também, foram apresentados três resumos no Congresso Brasileiro de Entomologia em 2018, além da publicação de 1 artigo científico na revista Internacional Pest Management Science (Qualis CAPES A1) referente ao primeiro capítulo desta tese. Ainda, delinea-se uma segunda publicação com o segundo capítulo da tese e outras publicações com estudos adicionais ao projeto de tese no contexto do tema.

Por outro lado, faz-se necessário mais informações a respeito da dinâmica populacional de insetos pragas no sistema de consórcio de milho com *U. ruziziensis*, porém, com os resultados apresentados, podemos inferir que a utilização desta modalidade de cultivo pode trazer muitos benefícios econômicos ao produtor nacional. Obviamente, além dos benefícios de caráter edáficos já grandemente difundidos e que favorecem o aumento de produtividade dos cultivos sem a necessidade de aumento de área, pode-se afirmar que o consórcio pode beneficiar o manejo fitossanitário dessas culturas de grande importância econômica para o país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CECCON, G.; STAUT, L. A.; SAGRILO, E.; MACHADO, L. A. Z.; NUNES, D. P.; ALVES, V. B. Legumes and forage species sole or intercropped with corn in soybean-corn succession in Midwestern Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 1: 204-212, 2013.

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

KLUTHCOUSKI, J.; CORDEIRO, L. A. M.; CECCON, G.; OLIVEIRA, P. **Braquiária na Agropecuária Brasileira: uma História de Sucesso**. In: CECCON, G. Consórcio Milho-Braquiária, Brasília: Embrapa, 2013, p. 15-23.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. A.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, p. 286-300, 2018.

MURARO, D. S.; GARLET, C. G.; GODOY, D. N.; COSSA, G. E.; RODRIGUES JUNIOR, G. L. DO S.; STACKE, R. F.; MEDEIROS, S. L. P.; GUEDES, J. V. C.; BERNARDI, O. Laboratory and field survival of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt and non-Bt maize and its susceptibility to insecticides. **Pest Manag Sci**, v. 75, p. 2202–2210, 2019.

MURÚA, M. G.; VERA, M. A.; MICHEL, A.; CASMUZ, A. S.; FATORETTO, J. GASTAMINZA, G. Performance of Field-Collected *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains Exposed to Different Transgenic and Refuge Maize Hybrids in Argentina. **J Insect Sci**, v. 19, p. 1–7, 2019.

NIU, Y.; QURESHI, J. A.; NI, X.; HEAD, G. P.; PRICE, P. A.; MEAGHER JR, R. L.; KERNS, D.; LEVY, R. YANG, X.; HUANG, F. F2 screen for resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2-maize in field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from the southern United States. **J Invertebr Pathol**, v. 138, p. 66–72, 2016.

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

SCOTON, A. M. N.; DEGRANDE, P. E.; DA SILVA, M. B.; JACQUES, F. L.; LOURENÇÃO, A. L. F.; DE SOUZA, E. P. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) control and productive performance of bt maize genotypes. **Brazilian J Agric - Rev Agric**, v. 95, n.68, 2020.

CAPÍTULO 1

Milho Bt e não-Bt consorciado com *Urochloa ruziziensis* como uma ferramenta para o manejo de resistência de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

Filipe L. Jacques^{1*}, Paulo E. Degrande¹, Evandro Gauer¹, José B. Malaquias², Ana Maria N. Scoton¹.

**Correspondente:* Filipe L. Jacques, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária, Caixa Postal 533, Dourados - MS - CEP 79804-970, Brasil; e-mail: fljacques@gmail.com Tel.: +55 67 99243-9910

¹ Programa de Pós-graduação em Agronomia, Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Caixa Postal 533, Dourados – MS, CEP 79804-970, Brasil

² Departamento de Estatística, Instituto de Biociências –IBB da Universidade do Estado de São Paulo (UNESP), R. Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin 250, Distrito de Rubião Junior, Botucatu – SP, CEP 18618-689

RESUMO

O cultivo de milho consorciado com braquiária é comum no Brasil. Ele melhora as características físico-químicas dos solos, aumenta a retenção de água e o balanço positivo de Carbono, além de suprimir o desenvolvimento de plantas daninhas e nematoides-praga do solo. Porém, o milho e a *Urochloa ruziziensis* são hospedeiros de *Spodoptera frugiperda* (a principal praga do milho na América do Sul); assim, o cultivo destas duas plantas no mesmo local, ao mesmo tempo, motiva a investigação sobre o comportamento e dinâmica populacional desta praga. Existem dúvidas se o sistema consorciado influencia a ocorrência de *S. frugiperda* e seus danos no milho. Considerando que se forem utilizados híbridos de milho com expressão em alta dose de toxinas, a *Urochloa ruziziensis* pode ser utilizada como um hospedeiro potencial para a produção de lagartas suscetíveis de *S. frugiperda*, e conseqüentemente funcionando como um refúgio alternativo, a ser incluído como ferramenta para o manejo de resistência da praga nos

campos de milho Bt. Para testar essas hipóteses sobre o uso da *Urochloa ruziziensis* como uma hospedeira alternativa de *S. frugiperda* em um sistema consorciado com milho, foram realizados estudos de campo em três safras para verificar questões relacionadas à etologia da *S. frugiperda* e seu dano nos diferentes sistemas de cultivo. Além da avaliação fenotípica, também foram caracterizadas molecularmente *S. frugiperda*, coletadas no milho e na *U. ruziziensis* para identificação dos diferentes biótipos. Os insetos coletados em milho e na *U. ruziziensis* foram, em sua maioria, identificados como sendo do biótipo milho. A *Urochloa ruziziensis* foi utilizada como um hospedeiro pela *S. frugiperda* durante todo o ciclo de cultivo nas três safras estudadas. O sistema consorciado não aumentou a população de *S. frugiperda* ou as injúrias na folha no milho Bt e não-Bt. Os resultados sugerem que o sistema consorciado não é prejudicial ao cultivo de milho Bt, uma vez que o conceito de alta dose se aplica a todos ínstares larvais do inseto. Os resultados também sugerem que a *U. ruziziensis* pode ser usada como um refúgio alternativo promissor nos agros ecossistemas de milho Bt, se atendidas as premissas das estratégias de manejo da resistência.

Palavras-chave: *Brachiaria ruziziensis*; hospedeiro alternativo; lagarta-do-cartucho; resistência; Vip3Aa20.

ABSTRACT

Corn intercropped with forage grasses is common in Brazil. It improves the physical and chemical characteristics of soils, increases water retention and positive carbon balance, in addition to suppressing the development of weeds and pest nematodes in the soil. However, corn and ruzigrass are hosts for *Spodoptera frugiperda* (the main corn pest in South America); thus, the cultivation of these two plants in the same place, at the same time, motivates the investigation on the behavior and population dynamics of this pest. We assumed that the intercropped system influences the occurrence of *S. frugiperda* and its damage in corn. Considering that if corn hybrids with high toxin expression are used, the ruzigrass can be used as a potential host for the production of susceptible *S. frugiperda* larvae, and consequently being functionally an alternative refuge to be included as a tool for the pest resistance management in Bt corn fields. To test these hypotheses about the use of ruzigrass as an alternative host of *S. frugiperda* in a system intercropped with corn, we conducted field studies in three crop seasons to verify issues

related to the ethology of *S. frugiperda* and its damage in different crop systems. In addition to the phenotypic evaluation, we also characterized molecularly *S. frugiperda*, which was collected from corn and ruzigrass to identify the different strains. The insects collected on maize and the ruzigrass were identified at high frequency as being of the corn strain. Ruzigrass was used as a host by *S. frugiperda* throughout the crop cycle in the three studied seasons. The intercropped system did not increase the population of *S. frugiperda* or the leaf damage in Bt and non-Bt corn. The results suggest that the intercropped system is not harmful to the cultivation of Bt maize since the concept of high dose applies to all larval instars of the insect. The results also suggest that ruzigrass can be used as a promising alternative refuge in the Bt corn agroecosystems if the compliance of the resistance management strategy is met.

Keywords: *Brachiaria ruziziensis*; fall armyworm; resistance; alternative host; Vip3Aa20.

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de cultivo onde o milho é consorciado com plantas forrageiras têm sido amplamente utilizados para a sustentabilidade da produção de grãos e carne no Brasil, e a *Brachiaria ruziziensis* (*Urochloa ruziziensis*) é conhecida como a espécie mais importante entre as alternativas de manejo (FERREIRA et al., 2010). Como o Brasil tem pelo menos duas épocas de cultivo em um ano, o principal objetivo desse sistema é aumentar a quantidade de palha após a colheita do milho, de tal forma que a matéria orgânica também aumenta para criar um ambiente melhor para a soja na próxima safra no Verão, bem como favorecer positivamente o balanço de carbono (COSTA et al., 2015). Quando o milho é colhido, as plantas de braquiária podem se desenvolver melhor e cobrir toda a área do solo onde foi semeada junto com o milho. A braquiária pode ser cultivada até próximo do período da próxima safra e, em seguida, ser dessecada. Nessas condições, há muitas melhorias nas propriedades químicas e físicas do solo (AMADO et al., 2007). Por exemplo, há um aumento na capacidade de retenção de água (CHIODEROLI et al., 2012; SOUZA et al., 2011), supressão do desenvolvimento de plantas daninhas resistentes (CONCENÇO et al., 2007; CONCENÇO et al., 2015; MECCHI et al., 2018), e um aumento na produção de soja na próxima safra, em mais de 1.500 kg.ha⁻¹ (ALVES et al., 2013; RIBEIRO et al., 2019; RIBEIRO et al., 2018). Há também um efeito supressivo na reprodução de alguns nematoides fitopatogênicos que são considerados um grande problema nas

lavouras no Brasil (INOMOTO et al., 2007; CUNHA et al., 2015). Por essas razões, no Cerrado Brasileiro, onde há menos água no calendário agrícola, o milho consorciado com espécies forrageiras foi adotado nos últimos anos e se tornou um fator determinante para o sucesso do cultivo de soja, principalmente em solos arenosos onde a retenção de água é menor.

Uma das pragas mais importantes deste sistema é a lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Ela é uma praga migratória e endêmica no hemisfério ocidental. A lagarta-do-cartucho é considerada a praga mais importante na família Noctuidae no continente americano (NAGOSHI et al., 2012). Recentemente se tornou uma espécie invasora em algumas áreas da África, Índia e Ásia. Mais recentemente, também invadiu a China, Tailândia, Sri Lanka, Bangladesh, Myanmar, Vietnã e Laos, e há uma grande probabilidade de que em breve infestará campos no Japão e Coreia do Sul e Norte (JACOBS et al., 2018; GOERGEN et al., 2016; COCK et al., 2017; SHARANABASAPPA et al., 2018; MA, et al., 2019; SONG et al., 2020).

A lagarta-do-cartucho é polífaga e pode se alimentar de 353 espécies de plantas em 76 famílias (MONTEZANO et al., 2018). Os danos mais graves podem ser observados em milho e sorgo (seus principais hospedeiros), bem como em outras culturas com grande importância social e econômica, como algodão e, mais recentemente, soja (BERNARDI et al., 2014; MALAQUIAS et al., 2017).

Levando-se em conta que a praga também se alimenta de *U. ruziziensis* e outras espécies forrageiras que são consorciadas com o milho (BOREGAS et al., 2013), hipotetiza-se que essa modalidade de cultivo favoreça o crescimento populacional desta praga, e contribua para a produção de indivíduos suscetíveis à toxina Bt (*Bacillus thuringiensis* Berliner) que é expressa por plantas geneticamente modificadas.

Spodoptera frugiperda pode facilmente se dispersar entre as plantas durante todas as fases do desenvolvimento larval, seja pelo vento na seda (balonismo) durante os primeiros instares, ou por caminamento durante toda a fase juvenil (PANUTTI et al., 2016; MALAQUIAS et al., 2021; MALAQUIAS et al., 2020). O movimento entre as plantas é um fenômeno que ocorre naturalmente na espécie, que se move entre plantas de milho a distâncias superiores a 1 m em qualquer direção de sua origem (PANUTTI et al., 2016). Ocorre a partir da eclosão das lagartas, por caminamento ou por balonismo, onde o principal objetivo da dispersão é evitar o canibalismo, enquanto em instares mais avançados, o objetivo do movimento é buscar

uma maior oferta de alimentos e proteção (ZALUCKI et al., 2002). Tal fato poderia favorecer o movimento de larvas de plantas forrageiras para plantas de milho, causando maior prejuízo econômico da cultura do que o esperado, especialmente se a forrageira proporcionar um aumento populacional de pragas na área. Esse fato também pode afetar a evolução da resistência ao milho Bt, por exemplo. Por outro lado, se a produção de mariposas nas plantas forrageiras tivesse sido restrita a essas plantas, haveria produção *in situ* de insetos de *S. frugiperda* sem pressão de seleção por toxinas Bt, dando, portanto, o efeito oposto: aumento da população de insetos suscetíveis para acasalarem, com possíveis homozigotos resistentes.

O movimento larval da lagarta-do-cartucho entre plantas tem se mostrado um fator que pode interferir na evolução da resistência, pois as larvas podem se mover a grandes distâncias depois de se alimentarem de plantas Bt para encontrar plantas sem toxinas (MALAQUIAS et al., 2020; RAMALHO et al., 2014). Dessa forma, a exposição à toxinas por um curto período permite a sobrevivência desses insetos, favorecendo a evolução da resistência por permitir que insetos heterozigotos transmitam os genes de resistência para novas gerações (SOUSA et al., 2016). Apesar disso, em eventos que apresentam expressão em alta dose das proteínas à mortalidade de neonatas pode ocorrer com o mínimo de consumo foliar. O risco é maior caso lagartas de ínstares mais avançados se movimentem da braquiária para plantas de milho Bt.

No Brasil e em outros países do continente americano, já foi documentada a existência de populações de *S. frugiperda* resistentes às toxinas Bt, como Cry1Ab (OMOTO et al., 2016), Cry1F (FARIAS et al., 2014; MURÚA et al., 2019) e Cry2Ab2 (NIU et al., 2016; MURARO et al., 2019). No presente momento, a proteína Vip3Aa20 continua sendo eficaz no controle dessa praga em condições de campo (BARCELOS et al., 2018; SCOTON et al., 2020), mas sua eficácia precisa ser conservada com urgência através de boas práticas de manejo. Assim, estratégias de manejo da resistência para garantir maior longevidade de tecnologias atuais e futuras eficazes no controle da praga são extremamente importantes. Além disso, entender como o sistema consorciado pode influenciar esse processo demanda entendimento pleno.

Mesmo o refúgio estruturado tratado ser uma boa medida para reduzir a evolução da resistência, menos de 20% da área cultivada nas estações de Verão e Outono/Inverno compreende área de refúgio de milho Bt (RESENDE et al., 2014). Como resultado dessa baixa conformidade dos produtores brasileiros, diferentes estratégias são necessárias para retardar a evolução da resistência. Assim, uma melhor compreensão da função, em termos de infestação e

potencial dano econômico do sistema consorciado envolvendo milho e *U. ruziziensis* no manejo da resistência é muito importante, principalmente porque tem sido mais utilizada pelos agricultores no Brasil nos últimos anos.

No presente estudo foram testadas algumas hipóteses sobre como o cultivo de milho consorciado com *U. ruziziensis* afeta a dinâmica populacional da *S. frugiperda*. A primeira hipótese é que o sistema de consórcio não aumenta a infestação da praga ou o nível de dano em milho Bt ou não-Bt. Outra hipótese é que a *U. ruziziensis* pode ser um hospedeiro de *S. frugiperda* em cultivos de milho Bt em cultivo consorciado. Portanto, pode atuar como um refúgio alternativo, pois a *U. ruziziensis* pode promover a produção de insetos suscetíveis às toxinas Bt. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a ocorrência natural a campo de *S. frugiperda* em híbridos de milho Bt e não-Bt consorciados com *U. ruziziensis* e verificar se esse sistema de cultivo pode favorecer o aumento populacional e os danos causados pela *S. frugiperda*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Experimentos de campo

Três experimentos foram realizados na Fazenda Experimental de Ciências Agrárias (FAECA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados (MS, Brasil), durante a safra de Verão 2017/2018, safra de Outono/Inverno de 2018 e safra de Verão 2018/2019.

O desenho experimental utilizado, nos três estudos, foi em blocos casualizados com cinco repetições. Cada parcela consistiu em uma área de 10 m x 10 m com 11 linhas de milho e 22 de *U. ruziziensis*. Como mostrado na Tabela 1, foram utilizados dois híbridos isogênicos de milho (Bt e não-Bt). O milho foi cultivado sozinho (solteiro) ou em consórcio com *U. ruziziensis*. Além disso, a *U. ruziziensis* também foi semeada solteira. A expressão da proteína Bt foi confirmada usando o teste rápido *QuickStix Kit for Vip3A Corn Leaf & Seed* (Envirologix™).

O milho foi semeado com o objetivo de atingir o estande populacional de 6 plantas por metro linear, com espaçamento entrelinhas de 0,9 m. A *U. ruziziensis* também foi semeada mecanicamente com espaçamento de 0,45 m entrelinhas quando em cultivo solteiro e consorciado (Figura 1). A semeadura das duas espécies foi realizada no mesmo dia. Para

controlar plantas daninhas, os herbicidas químicos atrazina (400 g i. a. ha⁻¹) e mesotriona (48 g i. a. ha⁻¹) foram utilizados após o surgimento das plantas daninhas e após o início do perfilhamento da *U. ruziziensis*. Capinas manuais também foram realizadas quando necessário. Não foram utilizados inseticidas ou fungicidas durante os ensaios para evitar alguma interferência nas populações de insetos ocorrentes.

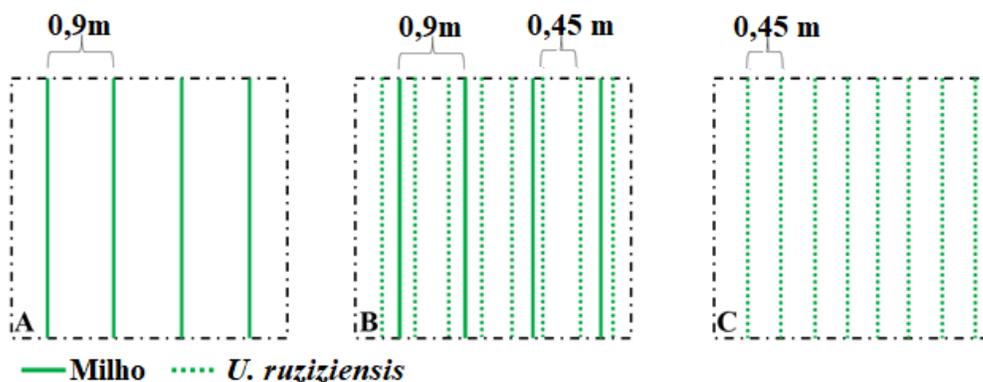


Figura 1. Representação esquemática das parcelas experimentais; A) milho em cultivo solteiro semeado com espaçamento de 0,9m (tratamento 1- Milho Bt, e tratamento 3 – milho não-Bt), B) Milho consorciado com *Urochloa ruziziensis* semeado com 0,9m entre linhas de milho e 0,45m entre linhas de *U. ruziziensis* (tratamento 2 – milho Bt, tratamento 4 – milho não-Bt, tratamento 6 – *U. ruziziensis*, e tratamento 7 – *U. ruziziensis*); C) *U. ruziziensis* solteira semeada com espaçamento de 0,45m entre linhas (tratamento 5).

Nos três estudos, a infestação natural da *S. frugiperda* foi monitorada utilizando-se uma série de parâmetros, avaliados da seguinte forma: - número de insetos por planta, avaliados em 4 plantas de milho por parcela (avaliação destrutiva); - número de insetos por planta, avaliados em 6 plantas de *U. ruziziensis* por parcela (avaliação destrutiva); o nível de dano *S. frugiperda* nas quatro plantas de milho seguindo a escala de notas de Davis et al. (1992); e o nível de dano em *U. ruziziensis* usando a escala numérica de Jacques et al. (2018).

As avaliações começaram após a primeira detecção de lagartas de *S. frugiperda* e foram feitas semanalmente no período da manhã até que as plantas de milho alcançassem a maturidade

fisiológica (R6 de acordo com a escala fenológica de Ritchie et al. (1993)). Na safra de Verão de 2017/18, foram realizadas 14 avaliações e na safra de Outono/Inverno de 2018, foram realizadas 16 avaliações. Na segunda safra de Verão (2018/19), foram realizadas 13 avaliações semanais, e finalizadas ao realizar a colheita do milho. O nível de dano nas plantas de milho foi avaliado até o estágio de pré-pendoamento (estádio VN), entretanto, para a *U. ruziziensis*, as avaliações continuaram até a colheita do milho.

Tabela 1. Tratamentos dos experimentos de campo.

Tratamento	Descrição
T ₁	Milho Bt solteiro (Status VIP3 TG TL - Syngenta [®])
T ₂	Milho Bt (Status VIP3 TG TL - Syngenta [®]) consorciado com <i>U. ruziziensis</i>
T ₃	Milho não-Bt solteiro (Status TG - Syngenta [®])
T ₄	Milho não-Bt (Status TG - Syngenta [®]) consorciado com <i>U. ruziziensis</i>
T ₅	<i>U. ruziziensis</i> solteira
T ₆	<i>U. ruziziensis</i> consorciada com milho Bt (StatusVIP3 TG TL - Syngenta [®])
T ₇	<i>U. ruziziensis</i> consorciada com milho não-Bt (Status TG - Syngenta [®])

2.2 Análise estatística

Os dados foram analisados com modelos aditivos generalizados e o melhor modelo para as safras 1 e 2 foi o binomial negativo, enquanto para a 3ª safra estudada, o modelo Poisson foi o que mais se ajustou. A qualidade de ajuste do modelo foi confirmada com um gráfico meio normal. As médias foram comparadas utilizando-se contrastes de modelo, com a função *glht* do pacote *multcomp* (HOTHORN et al., 2008). As análises foram realizadas com o software R[®] (R CORE TEAM, 2019). Dada a não normalidade dos dados de nível de danos da *S. frugiperda* nos tratamentos, utilizou-se um modelo de regressão não paramétrica do tipo polinomial local, utilizando-se o método *loess*, utilizando-se a função paramétrica = falsa no programa R (R CORE TEAM, 2019).

2.3 Identificação de biótipo de *Spodoptera frugiperda*

Para identificar os biótipos de milho e arroz de *S. frugiperda* que ocorreram nos três estudos, as lagartas foram coletadas aleatoriamente e independente da quantificação de insetos e

avaliações de níveis de dano para cada tratamento. As coletas foram realizadas semanalmente tanto em plantas de milho (Bt e não-Bt) quanto em *U. ruziziensis*. No primeiro, segundo e terceiro estudos, foram coletadas 101, 98 e 65 indivíduos de *S. frugiperda*, respectivamente, das plantas de milho e *U. ruziziensis*. Estes insetos foram armazenados em tubos plásticos (do tipo "Falcon", com tampa) contendo álcool etílico 99%, depois mantidos em um congelador (-20 °C) até a análise.

A identificação molecular foi realizada no Laboratório de Ecologia Molecular do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq) da Universidade de São Paulo, em Piracicaba (SP).

O DNA larval foi extraído utilizando o protocolo (CLARK et al., 2001) baseado em CTAB de 2%, com modificações. As cabeças das larvas foram utilizadas nas análises, embora todo o corpo fosse usado no caso de neonatas e lagartas muito pequenas.

O DNA extraído foi submetido à amplificação de uma região de 581 pares de bases do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI). Foi utilizada a reação em cadeia de polimerase (PCR), com o par de primer COI-891F (5'-TACACGAGCATATTTTACATC-3') e COI-1472R (5'-GCTGGTGGTAAATTTTGATATC-3'). A escolha dos primers foi baseada em trabalhos que identificaram o padrão de migração de ambos os biótipos na América do Norte (NAGOSHI et al., 2015). Os primers amplificaram uma região com um local polimórfico para a enzima EcoRV no biótipo arroz.

A reação do PCR foi realizada em um volume de 25 µL, contendo 2,5 µL de solução tampão livre de 10x Mg, 2,5 µL de 25 mM MgCl₂, 2,0 µL de 2,5 mM DNTP, 0,3 µL de polimerase de DNA Taq, 2,0 µL de cada primer a 5 pmol, 10,7 µL de água ultrapura e 3 µL de DNA extraído. Todos os reagentes utilizados foram da Sinapse® (Sinapse Biotecnologia, São Paulo, SP). A reação foi realizada em um termociclador Veriti 96-well (Biossistemas Aplicados) da seguinte forma: 95 °C por 5 minutos; 35 ciclos de 95 °C durante 1 minuto, 53 °C durante 30 segundos e 72 °C por 90 segundos; e uma etapa final de extensão de 72 °C por 7 minutos. A qualidade dos produtos PCR obtidos foi verificada por eletroforese em um gel de agarose.

Para o corte enzimático dos produtos PCR, utilizou-se a enzima de restrição recombinante da *Escherichia coli*, EcoRV (20000 unidades/ml, New England Biolabs). O volume de reação foi de 7,5 µL e consistiu em 4,0 µL do DNA amplificado, 0,75 µL do tampão

de enzima de 10x 0,3 µL da enzima e 2,45 µL de água ultrapura. A reação foi realizada em banho-maria com programa de 37 °C durante 60 minutos e 80 °C durante 15 minutos.

Para indivíduos do biótipo arroz, a enzima EcoRV corta esta sequência de DNA amplificada, gerando 2 fragmentos de aproximadamente 290 pares de base cada. Em indivíduos do biótipo milho, o fragmento amplificado não é cortado pela enzima, possibilitando distinguir os biótipos através da eletroforese de gel agarose, que mostra bandas em diferentes posições para cada biótipo.

3. RESULTADOS

3.1 Safra de Verão de 2017/2018

Na primeira safra avaliada (Verão de 2017/18), a detecção de lagartas de *S. frugiperda* ocorreu quando as plantas de milho (Bt e não-Bt) atingiram o estágio fenológico V5 (Anexo 1). Houve uma interação significativa entre o sistema de cultivo *versus* o estágio fenológico das plantas de milho para infestação da *S. frugiperda* (análise de deviance com modelo Poisson; $\chi^2_{6,39} = 28,92$; $P < 0,0001$) na primeira safra. Isto significa que as infestações de *S. frugiperda* nas plantas estudadas variam de acordo com o sistema de cultivo e estádios das plantas (Tabela 2).

U. ruzizensis consorciada com milho Bt apresentou o maior número de insetos por planta no período que compreendeu o estágio vegetativo do milho. No entanto, não foi encontrada diferença estatística entre a infestação observada neste tratamento e a *U. ruzizensis* quando consorciada com milho Bt, consórcio com milho não-Bt e *U. ruzizensis* em cultivo solteiro ($P > 0,05$) (Tabela 2).

Na fase reprodutiva (estádio R), as maiores infestações foram encontradas na *U. ruzizensis* em cultivo solteiro e em cultivo consorciado com milho não-Bt. Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) em relação à infestação de *S. frugiperda* entre *U. ruzizensis* consorciada com milho não-Bt e consorciada com milho Bt. Em relação à comparação entre os estádios de desenvolvimento em cada sistema de cultivo, verificou-se que a infestação da *S. frugiperda* no estágio vegetativo foi maior no milho não-Bt solteiro, no milho Bt em consórcio e na *U. ruzizensis* consorciada com milho Bt. Não foram observadas diferenças significativas entre os estádios para os demais tratamentos (Tabela 2).

Considerando todo o ciclo de cultivo, o milho Bt em cultivo solteiro apresentou infestação por *S. frugiperda* apenas na fase vegetativa (Tabela 2). Quando em consórcio, as

lagartas foram encontradas até o início do estágio R1, com o aparecimento dos estilo-estigmas (Anexo 1).

3.2 Safra de Outono/Inverno de 2018

Na safra de Outono/Inverno, a infestação de *S. frugiperda* também variou de acordo com o sistema de cultivo e os estádios de desenvolvimento, pois foi encontrada uma significativa interação envolvendo o sistema de cultivo e o estágio fenológico das plantas para a infestação de *S. frugiperda* (análise de deviance com modelo binomial negativo; $F_{6,39} = 7,93$; $P < 0,0001$) (Tabela 2).

Nesta safra, os tratamentos com maior infestação ($P < 0,05$) foram milho não-Bt solteiro e milho não-Bt consorciado, nos estádios vegetativo e reprodutivo. A infestação na fase vegetativa em *U. ruziziensis* em consórcio com milho Bt não diferiu ($P > 0,05$) em relação ao milho não-Bt consorciado. A infestação foi maior ($P < 0,05$) no estágio vegetativo do que o estágio reprodutivo na *U. ruziziensis* solteira, *U. ruziziensis* consorciada com milho não-Bt, e *U. ruziziensis* consorciada com milho Bt (Tabela 2).

Nas parcelas de milho Bt, independente do sistema de cultivo (solteiro ou consorciado), a infestação larval ocorreu apenas no estágio vegetativo do milho, entre V5 e VT para o cultivo solteiro e entre V4 e VT em sistema consorciado (ANEXO). Comparando os híbridos de milho nos dois tipos de cultivo, diferenças significativas ocorreram até 77 dias após a emergência (DAE) das plantas de milho (estágio R1) (Anexo 1).

Ao comparar as plantas de *U. ruziziensis* nos três tipos de cultivo (solteiro, consorciada com milho Bt, e consorciada com milho não-Bt), observou-se diferença entre os valores médios apenas em 41 DAE (Anexo 1). Aqui, o número de lagartas por planta foi significativamente maior em plantas consorciadas com milho Bt (0,3 larvas por planta) do que plantas em cultivo solteiro (0,033 larvas por planta) (Anexo 1).

3.3 Segunda Safra de Verão (2018/2019)

Na segunda safra de Verão (2018/2019) houve interação significativa envolvendo os fatores sistema de cultivo *versus* estágio de infestação de *S. frugiperda* (análise de deviance com modelo binomial negativo; $F_{6,39} = 2,89$; $P = 0,0080$). O milho não-Bt solteiro apresentou a maior infestação de *S. frugiperda* nos estágios vegetativo e reprodutivo ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Na fase vegetativa, a infestação da *S. frugiperda* no milho Bt consorciado não foi diferente da encontrada em *U. ruziziensis* consorciada com milho Bt ou com milho não-Bt. Na fase reprodutiva do milho, a infestação da *S. frugiperda* não foi diferente no milho Bt em consórcio em comparação com *U. ruziziensis* em consórcio com milho Bt, *U. ruziziensis* solteira, e de milho Bt solteiro (Tabela 2).

Milho Bt em ambos os sistemas (consorciado ou não) apresentou infestação larval apenas em sua fase vegetativa (Anexo 1), sem insetos encontrados durante o desenvolvimento de espigas e grãos. Também não houve diferenças significativas na população durante o ciclo de cultivo. Os valores máximos obtidos foram de 0,150 larvas por planta em cultivo solteiro e 0,400 larvas por planta em consórcio, ambas a 26 DAE (Anexo 1). Em relação à *U. ruziziensis* na segunda temporada de Verão, aos 26 DAE, foi a que apresentou a maior média (0,367 larvas por planta) (Anexo 1).

3.4 Nível de dano de *Spodoptera frugiperda*

Com relação ao nível de dano de *S. frugiperda*, em todos os sistemas de cultivo com milho Bt não atingiram nota 2 na escala de Davis et al. (1992) (Figuras 2, 3 e 4). No milho não-Bt, o nível de dano foi maior no plantio solteiro do que no sistema consorciado quando na fase V5 durante a safra de Verão 2017/2018 (Figura 2), e na fase V5 na safra de Verão 2017/2018 e na safra de Outono/Inverno de 2018 (Figuras 2 e 3).

A espécie *U. ruziziensis* consorciada com milho não-Bt apresentou o maior dano foliar em R2 na safra de Verão 2017/2018 (Figura 2) e o menor em VT na safra de Outono/Inverno de 2018 (Figura 3). *U. ruziziensis* consorciada com milho Bt teve o maior nível de dano no período em que o milho estava na fase V5 durante a safra de Outono/Inverno (Figura 3). Na fase R2, durante a safra 2018 Outono/Inverno (Figura 3), e nas fases R4 e R5, na safra de Verão 2017/2018 (Figura 2), a *U. ruziziensis* apresentou maior nível de dano quando comparada com outros sistemas de cultivos.

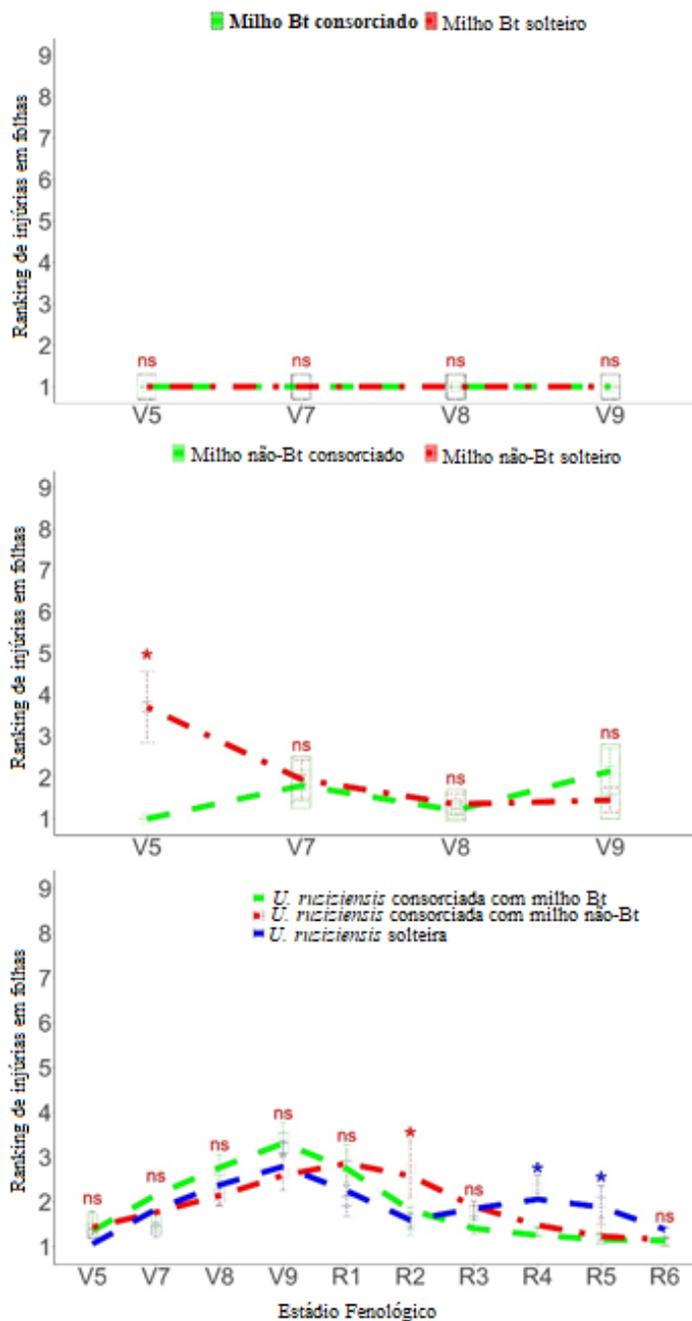


Figura 2. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt, milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* em cultivo solteiro com seus respectivos tratamentos consorciados na safra de Verão 2017/2018. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.

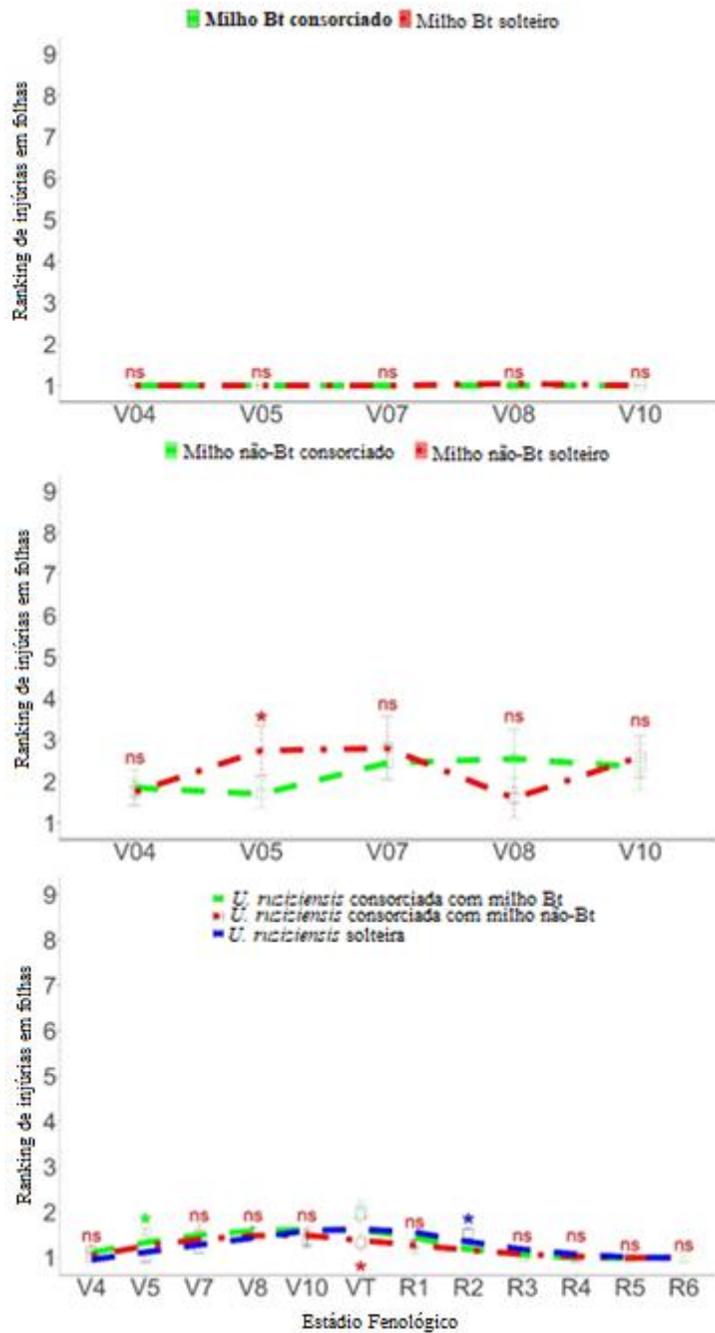


Figura 3. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* no milho Bt , milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* com seus respectivos tratamentos consorciado na safra de Outono-Inverno de 2018. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.

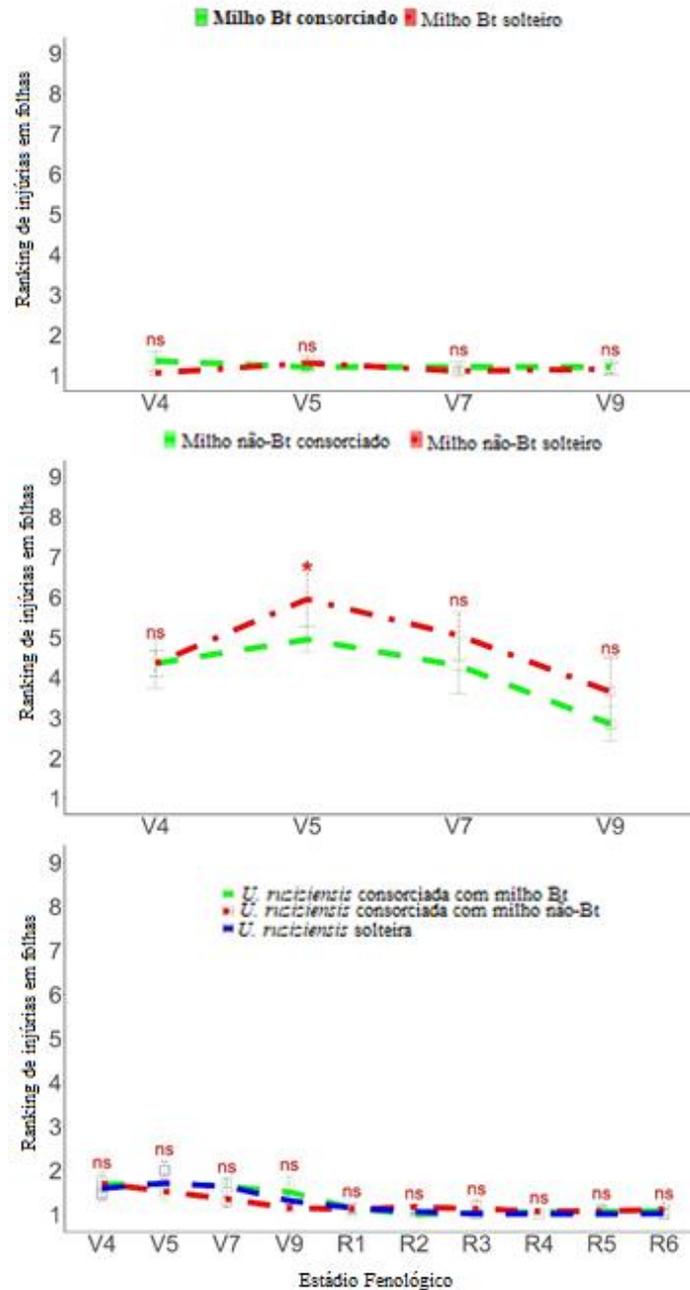


Figura 4. Comparação dos níveis de dano de *Spodoptera frugiperda* em tratamentos de milho Bt , milho não-Bt e *Urochloa ruziziensis* com seus respectivos tratamentos consorciados na safra de Verão de 2018/2019. Barras com asterisco indicam que há diferença significativa entre os tratamentos no mesmo estágio por não sobrepor intervalo de confiança de 95% (IC95%) estimado por modelo de regressão não paramétrica (IC 95%). A cor do asterisco indica que a média do tratamento é maior ou menor em relação a outros tratamentos. A expressão "ns" significa que não há diferença entre os tratamentos.

Tabela 2. Número médio (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* por planta de milho (Bt e não-Bt) e *Urochloa ruziziensis* em cultivo solteiro e consorciado nas safras 2017/2018, 2018 e 2018/19. Dourados-MS, Brasil. 2020.

Safrá 1 (Verão 2017/2018)													
Estádio Fenológico do Milho	milho não-Bt solteiro	milho Bt solteiro	<i>U. ruziziensis</i> solteira	Milho não-Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt	Milho Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt						
V	0,18 ¹ \pm 0,09	Ab 0,03 \pm 0,04	C 0,27 \pm 0,10	Aab 0,25 \pm 0,11	Aab 0,28 \pm 0,11	Aab 0,06 \pm 0,05	Ac 0,42 \pm 0,12	Aa					
R	0,07 \pm 0,05	Bc 0,00 \pm 0,00	* 0,27 \pm 0,09	Aa 0,16 \pm 0,08	Aa 0,19 \pm 0,07	Aab 0,01 \pm 0,01	Bd 0,08 \pm 0,05	Bc					
Safrá 2 (Outono/Inverno 2018)													
Estádio Fenológico do Milho	milho não-Bt solteiro	milho Bt solteiro	<i>U. ruziziensis</i> solteira	Milho não-Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt	Milho Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt						
V	0,45 \pm 0,17	Aa 0,09 \pm 0,06	d 0,16 \pm 0,07	Acd 0,30 \pm 0,12	Aab 0,17 \pm 0,06	Acd 0,08 \pm 0,07	d 0,22 \pm 0,07	Abc					
R	0,26 \pm 0,10	Aa 0,00 \pm 0,00	* 0,02 \pm 0,02	Bb 0,18 \pm 0,08	Aa 0,04 \pm 0,03	Bb 0,00 \pm 0,00	* 0,01 \pm 0,01	Bb					
Safrá 3 (Verão 2018/2019)													
Estádio Fenológico do Milho	milho não-Bt solteiro	milho Bt solteiro	<i>U. ruziziensis</i> solteira	Milho não-Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt	Milho Bt consorciado	<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt						
V	1,19 \pm 0,26	Aa 0,09 \pm 0,06	Ad 0,14 \pm 0,05	Acd 0,58 \pm 0,14	Ab 0,17 \pm 0,07	Acd 0,25 \pm 0,10	Ac 0,21 \pm 0,21	Ac					
R	0,34 \pm 0,11	Ba 0,01 \pm 0,01	Bd 0,01 \pm 0,01	Bd 0,13 \pm 0,05	Bb 0,05 \pm 0,04	Bc 0,01 \pm 0,01	Bd 0,02 \pm 0,02	Bcd					

¹Médias seguidas da mesma letra minúscula (na mesma linha) e letra maiúscula (na mesma coluna) não diferem estatisticamente entre si por contrastes gerados pelo modelo. *Não considerado nos contrastes por falta de variabilidade; EP: Erro padrão; V= estágio vegetativo do milho . R= estágio reprodutivo do milho .

3.5 Identificação molecular dos biótipos de *Spodoptera frugiperda*

Lagartas de *S. frugiperda* coletadas nas três safras estudadas foram analisadas molecularmente, e os dois biótipos (milho e arroz) foram encontradas se alimentando tanto de milho como de *U. ruziziensis* (Figura 5), grande predominância do biótipo milho.

Na safra de Verão 2017/2018, 100% das larvas coletadas de plantas de milho (14 insetos) e 73,3% das larvas coletadas das plantas de *U. ruziziensis* (11 insetos) foram identificadas como sendo do biótipo milho. Apenas 4 larvas (26,7%) coletados de plantas de *U. ruziziensis* foram identificados como sendo do biótipo de arroz. Na safra de Outono/Inverno 2018, 100% das larvas coletadas das plantas de milho e *U. ruziziensis* foram identificadas como do biótipo milho. Das 37 lagartas analisadas coletadas de plantas de milho na safra de Verão 2018/2019, 36 (97,3%) foram identificados como sendo do biótipo de milho e apenas uma (2,7%) como sendo do biótipo arroz. Da mesma forma, a maioria das lagartas coletadas das plantas de *U. ruziziensis* foram identificadas como sendo do biótipo milho (21 de 22 analisadas) e apenas uma era do biótipo arroz.

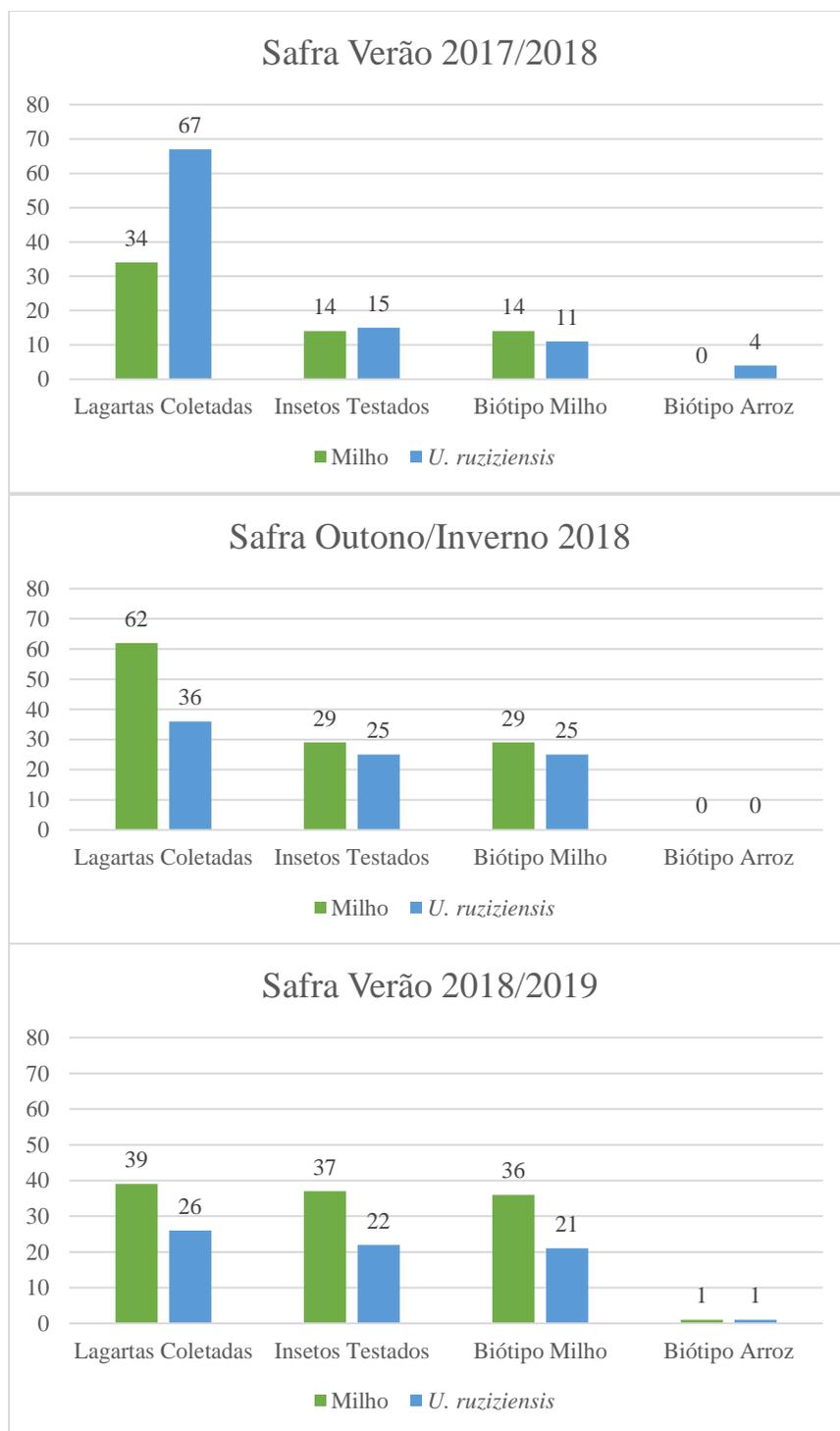


Figura 5. Identificação molecular dos biótipos milho e arroz das lagartas de *Spodoptera frugiperda* coletadas nas plantas de milho e *Urochloa ruziziensis* nas safras de Verão de 2017/2018, Outono-Inverno de 2018 e Verão de 2018/2019.

4. DISCUSSÃO

A ocorrência de *S. frugiperda* está inteiramente ligada à disponibilidade de alimentos e não necessariamente à época do ano ou latitude/longitude da região onde a praga ocorre. No entanto, a intensidade de sua ocorrência é diretamente influenciada por fatores ambientais, como temperatura, chuva (PIOVESAN et al., 2018; PIOVESAN et al., 2019) e cultivo. Embora esses primeiros dois fatores ambientais não tenham sido considerados em nosso estudo, a maior população foi observada nas safras de Verão (2018/2019 e 2017/2018), quando ocorrem as maiores temperaturas e chuvas no Brasil. No entanto, não é a estação de cultivo preferida para esta safra na região do Cerrado Brasileiro, pois a soja é cultivada principalmente neste momento.

Em altas temperaturas, *S. frugiperda* completa seu ciclo mais rápido, em menos de 30 dias, possibilitando ter várias gerações durante um ciclo de cultivo de milho, aumentando assim o ataque durante os meses mais quentes do ano (CRUZ e MONTEIRO, 2004; ARAÚJO et al., 2011). Esse fato pode explicar a menor incidência da ocorrência da praga na safra de Outono/Inverno de 2018, embora a praga continue sendo problemática nessa época.

A significativa preferência da *S. frugiperda* por plantas de milho em seus estádios iniciais (vistas em todas as três safras estudadas) confirma uma hipótese anterior (RAMALHO et al., 2014; SOUSA et al., 2016) de que as larvas se deslocam para plantas sem toxinas após se alimentarem de plantas Bt por um curto período de tempo. Esta afirmação sugere a possibilidade de sobrevivência desses insetos nas plantas de *U. ruziziensis*, o que poderia favorecer a evolução da resistência devido à ingestão de uma dose subletal de toxina caso não ocorra expressão em altas doses de proteína.

Urochloa ruziziensis permitiu que as larvas sobrevivessem durante todo o ciclo de cultivo de milho nas três safras estudadas, mas com uma diminuição da população larval durante o Outono/Inverno, no período correspondente à fase reprodutiva do milho. Essas informações mostram que *U. ruziziensis* não causa uma incompatibilidade temporal de reprodução entre as populações de *S. frugiperda*, provenientes do milho e da forrageira.

A identificação do biótipo dos insetos é particularmente importante para um manejo eficiente. Diferenças genéticas que geram diferenças fisiológicas entre biótipos podem influenciar a frequência de resistência aos inseticidas químicos (RÍOS-DÍEZ et al., 2011; ARIAS et al., 2019) e à plantas que expressam proteínas Bt (INGBER et al., 2018; LOTO et al., 2019). Além disso, o biótipo arroz é mais suscetível a ambos os métodos de controle do que o biótipo de

milho. Apesar de polífaga, a diferenciação genética da espécie é caracterizada de acordo com o hospedeiro, embora existam relatos de que o biótipo milho tem uma distribuição mais ampla em relação às espécies cultivadas do que o biótipo de arroz (JUÁREZ et al., 2012). Assim, embora ambos os biótipos tenham a capacidade de migrar por longas distâncias, até mesmo intercontinentais, a grande maioria das populações de *S. frugiperda* nas regiões agrícolas do Brasil são do biótipo milho (SILVA-BRANDÃO et al., 2018).

A adoção do sistema de consórcio envolvendo milho e *U. ruziziensis* tem crescido. Caso as lagartas encontradas neste estudo nas plantas de *U. ruziziensis* fossem principalmente associadas ao biótipo arroz, tal fato poderia fazer a recomendação de uso de forragem consorciada com milho como refúgio alternativo inviável, já que este biótipo está intimamente ligado ao cultivo de arroz e outras gramíneas (PASHLEY, 1986) e as do biótipo milho encontradas nas plantas de milho. Isso seria confirmado principalmente pelas diferenças nos hábitos de reprodução, como a incompatibilidade temporal, uma vez que a cópula das mariposas do biótipo de milho ocorre preferencialmente nos dois primeiros terços da escotofase e do biótipo de arroz preferencialmente no último terço (PASHLEY et al., 1992; SCHÖFL et al., 2009). Além disso, há diferenças na composição química dos feromônios sexuais (GROOT et al., 2008), que são muito importantes no momento de escolha do parceiro para acasalamento. Assim, qualquer inseto resistente que pudesse sobreviver nas culturas de Bt apresentaria incompatibilidade reprodutiva com os insetos suscetíveis produzidos na *U. ruziziensis*.

O início da infestação geralmente ocorre através da migração de adultos de outras áreas após a detecção do hospedeiro (NAGOSHI et al., 2012; JOHNSON, 1987). A preferência por oviposição por fêmeas adultas da *S. frugiperda* já se mostrou aleatória quando há múltiplas espécies hospedeiras na mesma área (GONÇALVES et al., 2020; BARROS et al., 2010). No entanto, geralmente escolhe plantas com menor lesão de folhas, pois haverá maior oferta de alimentos para a prole (TÉLLEZ-RODRIGUEZ et al., 2014). Essa característica pode explicar a preferência pelas plantas de milho observadas no início da infestação neste trabalho. O rápido desenvolvimento inicial de milho contra *U. ruziziensis* (MAKINO et al., 2019) disponibilizou uma maior oferta de área foliar, sendo mais atraente para fêmeas adultas ovipositarem. Apesar disso, como em outros estudos, não foram encontradas muitas posturas nas plantas estudadas e, quando encontradas, eram frequentemente restritas entre os estágios vegetativos V2 e V4 das plantas de milho (MURÚA et al., 2009).

As lagartas de *S. frugiperda* têm preferência alimentar pelas folhas do cartucho das plantas de milho. Apesar disso, pode atacar a planta em todas as fases de desenvolvimento e atacar as outras estruturas, como o pendão, o estilo-estigma e a espiga (ANDREWS, 1980). Essa preferência foi observada neste trabalho em que, tanto nas plantas de milho Bt quanto não-Bt, a ocorrência desse inseto foi principalmente no estágio vegetativo da cultura, e sua população diminuiu à medida que o estágio reprodutivo progredia e o cartucho deixou de existir. Apesar disso, as lagartas ainda foram encontradas nas espigas de milho, mas com uma infestação muito menor e menos significativa quando comparada com o dano causado no estágio vegetativo.

O movimento larval pode favorecer a evolução da resistência através da exposição em casos de eventos com baixa expressão de toxinas Bt (SOUSA et al, 2016; SORGATTO et al., 2015) de duas maneiras diferentes: através da alimentação inicial em plantas de milho Bt, seguido de dispersão para *U. ruziziensis*, no qual é possível completar seu ciclo (SÁ et al., 2009); ou através da dispersão de larvas maiores, que inicialmente desenvolveram-se em hospedeiros não-Bt, como *U. ruziziensis*, para as plantas de milho Bt, resultando em um menor tempo de exposição à toxinas em que não ingerem doses letais de toxina (MIRALDO et al., 2016; SENA et al., 2009). No entanto, não foram observadas lesões significativas nas plantas, expressando a proteína Vip3Aa20 nas três safras estudadas. Este fato prova sua eficiência no controle de insetos ainda maiores que podem ter migrado de plantas de *U. ruziziensis* e possibilitando o consórcio com esta planta forrageira como um refúgio alternativo. Embora já existam populações de *S. frugiperda* resistentes à tecnologia Bt (FARIAS et al., 2014; MURÚA et al., 2019; STORER et al., 2010; STORER et al., 2012; HORIKOSHI et al., 2016), milhos transgênicos que expressam a proteína Vip3Aa20 em combinação com outras proteínas ainda demonstram sinergismo e alta eficiência de controle (PAIVA et al., 2016; YANG et al., 2017; FIGUEIREDO et al., 2019). Estes causam altos níveis de mortalidade em lagartas suscetíveis e heterozigotas, mesmo quando inicialmente alimentados com milho não-Bt por um período de 10 dias (SORGATTO et al., 2015), e têm alta eficácia no campo (SCOTON et al., 2020). Estudos que visam compreender o movimento larval entre as plantas e as interações com outros níveis tróficos (MALAQUIAS et al., 2017; MALAQUIAS et al., 2020), como outras pragas (MALAQUIAS et al., 2020) e fisiologia de plantas Bt (PACHÚ et al., 2021), são necessários para prever as consequências na evolução da resistência. Isso deve permitir recomendações mais precisas para o consórcio de *U. ruziziensis* com milho Bt ou não-Bt.

5. CONCLUSÕES

O milho consorciado com a *U. ruziziensis* demonstrou que a presença da forrageira não favoreceu o aumento da população da *S. frugiperda* e nem aumenta o nível de dano no milho Bt com o evento Vip3Aa20.

U. ruziziensis consorciada com milho Bt pode funcionar como um refúgio alternativo para a *S. frugiperda*, se a tecnologia utilizada seguir as recomendações das práticas de manejo de resistência. Essas práticas incluem piramidação de toxinas, baixa frequência de alelo resistência, expressão em alta dose, refúgio estruturado com milho não-Bt, monitoramento populacional e riqueza e abundância de inimigos naturais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, V. B.; PADILHA, N. S.; GARCIA, R. A.; CECCON, G. Milho safrinha consorciado com *Urochloa ruziziensis* e produtividade da soja em sucessão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, p. 280-292, 2013.

AMADO, T. J. C.; PONTELLI, C. B.; SANTI, A. L.; VIANA, J. H. M.; SULZBACH, L. A. D. S. Variabilidade espacial e temporal da produtividade de culturas sob sistema plantio direto. **Pesqui Agropecu Bras**, v. 42, p. 1101–1110, 2007.

ANDREWS, K. L. The Whorlworm, *Spodoptera frugiperda*, in Central America and Neighboring Areas. **Florida Entomol**, v. 63, p.456–467, 1980.

ARAÚJO, L. F.; SILVA, A. G.; CRUZ, I. CARMO, E. L.; HORVATH NETO, A.; GOULART, M. M. P.; RATTES, J. F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) E *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico Bt. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 10, p. 205-214, 2011.

ARIAS, O.; CORDEIRO, E.; CORRÊA, A. S.; DOMINGUES, F. A.; GUIDOLIN, A. S.; OMOTO, C. Population genetic structure and demographic history of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): implications for insect resistance management programs. **Pest Manag**

Sci, v. 75, p. 2948–2957, 2019.

BARCELOS, P. H. S.; ANGELINI, M. R. Controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em diferentes tecnologias Bts (*Bacillus thuringiensis*) na cultura do milho. **J Neotrop Agric**, v. 5, p. 35–40, 2018.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição , Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J . E . Smith) (Lepidoptera : Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. **Neotrop Entomol**, v. 39, p. 996–1001, 2010.

BERNARDI, O. SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Prot**, v. 58, p. 33–40, 2014.

BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; WILSON FERNANDES, G. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia**, v. 72, p. 61–70, 2013.

CHIODEROLI, C. A.; DE MELLO, L. M. M.; GRIGOLLI, P. J.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, J. O. R.; CESARIN, A. L. Physycal properties of soil and yield of soybeans in corn braquiaria consortium. **Rev Bras Eng Agric e Ambient**, v. 16, p. 37–43, 2012.

CLARK, T. L.; MEINKE, L. J.; FOSTER, J. E. Molecular phylogeny of *Diabrotica* beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) inferred from analysis of combined mitochondrial and nuclear DNA sequences. **Insect Mol Biol**, v. 10, p.303–314, 2001.

COCK, M. J. W.; BESEH, P. K.; BUDDIE, A. G.; CAFÁ, G.; CROZIER, J. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the spread of invasive

species in developing countries. **Sci Rep**, v. 7, p. 1–10, 2017.

CONCENÇO, G.; CECCON, G.; CORREIA, I. V. T.; LEITE, L. F.; ALVES, V. B. Ocorrência de espécies daninhas em função de sucessões de cultivo. **Planta Daninha**, v. 31, p. 359–368, 2013.

CONCENÇO, G.; CECCON, G.; MARQUES, R. F.; MARSCHALL, I. R.; DOS SANTOS ALVES, M. E.; PALHARINI, W. G.; GALON, L. Cultivos de outono-inverno na supressão de plantas daninhas em soja. **Rev Bras Ciências Agrar**, v.10, p. 205–210, 2015.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; LOPES, K. S. M.; YOKOBATAKE, K. L.; FERREIRA, J. P.; PARIZ, C. M.; BONINI, C. S. B.; LONGHINI, V. Z. Atributos do Solo e Acúmulo de Carbono na Integração Lavoura-Pecuária em Sistema Plantio Direto. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 39, p. 852-863, 2015.

CRUZ, I.; MONTEIRO, M. A. R. Controle Biológico da Lagarta do Cartucho do Milho, *Spodoptera frugiperda*, utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum*, **Comun Técnico 98**, EMBRAPA, n. 4, 2004.

CUNHA, T. P. L.; MINGOTTE, F. L. C.; CHIAMOLERA, F. M.; CARMEIS FILHO, A. C. D. A.; SOARES, P. L. M.; LEMOS, L. B.; VENDRAMINI, A. R. Ocorrência de nematoides e produtividade de feijoeiro e milho em função de sistemas de cultivo sob plantio direto. **Nematropica**, v. 45, p 34–42, 2015.

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

FERREIRA, A. C. De B.; LAMAS, F. M.; CARVALHO, M. Da C. S.; SALTON, J. C.; SUASSUNA, N. D. Produção de biomassa por cultivos de cobertura do solo e produtividade do algodoeiro em plantio direto. **Pesqui Agropecu Bras**, v. 45, p. 546–553, 2010.

FIGUEIREDO, C. S.; LEMES, A. R. N.; SEBASTIÃO, I.; DESIDÉRIO, J. A. Synergism of the *Bacillus thuringiensis* Cry1, Cry2, and Vip3 Proteins in *Spodoptera frugiperda* Control. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, p. 798-809, 2019.

GOERGEN, G.; KUMAR, P. L.; SANKUNG, S. B.; TOGOLA, A.; TAMÒ, M. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS One**, v. 11, p. 1–9, 2016.

GONÇALVES, J.; RODRIGUES, J. V. C.; SANTOS-AMAYA, O. F.; PAULA-MORAES, S. V.; PEREIRA, E. J. G. The oviposition behavior of fall armyworm moths is unlikely to compromise the refuge strategy in genetically modified Bt crops. **J Pest Sci**, v. 93, p. 965–977, 2020.

GROOT, A. T.; MARR, M.; SCHÖFL, G.; LORENZ, S.; SVATOS, A.; HECKEL, D. G.; Host strain specific sex pheromone variation in *Spodoptera frugiperda*. **Front Zool**, v. 5, p. 1–13, 2008.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: Implications for resistance management. **Sci Rep**, v. 6, p. 1–8, 2016.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical J**, v. 50, p. 346–363, 2008.

INGBER, D. A.; MASON, C. E.; FLEXNER, L. Cry1 Bt Susceptibilities of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains. **J Econ Entomol**, v. 111, p. 361–368, 2018.

INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C. Z.; ANTEDOMÊNICO, S. R. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatol Bras**, v. 32, p. 341–344, 2007.

JACOBS, A.; VUUREN, A. VAN.; RONG, I. H. Characterisation of the Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) from South Africa . **African Entomol**, v. 26, p. 45–49, 2018.

JACQUES, F. L .; GAUER, E.; DEGRANDE, P. E.; BARBOSA, S. B. Escala numérica para injúrias de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em *Urochloa ruziziensis*. **Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia**, 2018.

JOHNSON, S. J. Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the western hemisphere. **Int J Trop Insect Sci**, v. 8, p. 543–549, 1987.

LOTO, F. V.; CARRIZO, A. E.; ROMERO, C. M.; BAIGORÍ, M. D., PERA, L. M. *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains from Northern Argentina: Esterases, Profiles, and Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae). **Florida Entomol**, v. 102, p. 347, 2019.

MA, J.; WANG, Y. P.; WU, M. F.; GAO, B. Y.; LIU, J.; LEE, G. S.; OTUKA, A.; HU, G. High risk of the fall armyworm invading Japan and the Korean Peninsula via overseas migration. **J Appl Entomol**, v. 143, p. 911–920, 2019.

MAKINO, P. A.; CECCON, G.; RIBEIRO, L. M.; CECCON, F. Agronomic Performance and Photosynthetically Active Radiation Intercepted By Maize Intercropped With *Brachiaria*. **J Neotrop Agric**, v. 6, p. 42–48, 2019.

MALAQUIAS, J. B.; GODOY, W. A. C.; GARCIA, A. G.; RAMALHO, F. D. S.; OMOTO, C. Larval Dispersal of *Spodoptera frugiperda* Strains on Bt Cotton: A Model for Understanding Resistance Evolution and Consequences for its Management. **Sci Rep**, v. 7, p. 1–10, 2017.

MALAQUIAS, J. B.; GODOY, W. A. C.; CAPRIO, M. A.; PACHÚ, J. K. S.; RAMALHO, F. S.; OMOTO, C.; FERREIRA, C. P. Evolutionary process modelling with bayesian inference of

Spodoptera frugiperda ballooning and walking dispersal on Bt and non-Bt cotton plants mixture. **Ent Exp App**, 2021. <https://doi.org/10.1111/eea.13045>

MALAQUIAS, J. B.; CAPRIO, M. A.; GODOY, W. A. C.; OMOTO, C.; RAMALHO F. S.; PACHÚ, J. K. S. Experimental and theoretical landscape influences on *Spodoptera frugiperda* movement and resistance evolution in contaminated refuge areas of Bt cotton. **J Pest Sci**, v. 93, p. 329–340, 2020.

MALAQUIAS, J. B.; SANTANA, D. R. S.; DEGRANDE, P. E.; FERREIRA, C. P.; MELO, E. P.; GODOY, W. A. C.; PACHU, J. K. S.; RAMALHO, F. S.; OMOTO, C.; PEREIRA, A. I. A.; GUAZINA, R. A. Shifts in ecological dominance between two lepidopteran species in refuge areas of Bt cotton. **Insects**, v. 12, n. 157, 2021. <https://doi.org/10.3390/insects12020157>

MECHI, I. A.; SANTOS, A. L. F. DOS; RIBEIRO, L. M.; CECCON, G. Infestação De Plantas Daninhas De Difícil Controle Em Função De Anos De Consórcio Milho-Braquiária. **J Neotrop Agric**, v.5, p. 49–54, 2018.

MIRALDO, L. L.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R. J. E.; AMARAL, F. S. A.; BERNARDI, D.; OMOTO, C. Functional dominance of different aged larvae of Bt-resistant *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on transgenic maize expressing Vip3Aa20 protein. **Crop Prot**, v. 88, p. 65–71, 2016.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. A.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, p. 286-300, 2018.

MURARO, D. S.; GARLET, C. G.; GODOY, D. N.; COSSA, G. E.; RODRIGUES JUNIOR, G. L. DO S.; STACKE, R. F.; MEDEIROS, S. L. P.; GUEDES, J. V. C.; BERNARDI, O. Laboratory and field survival of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt and non-Bt maize and its susceptibility to insecticides. **Pest Manag Sci**, v. 75, p. 2202–2210, 2019.

MURÚA, M. G.; VERA, M. A.; MICHEL, A.; CASMUZ, A. S.; FATORETTO, J. GASTAMINZA, G. Performance of Field-Collected *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains Exposed to Different Transgenic and Refuge Maize Hybrids in Argentina. **J Insect Sci**, v. 19, p. 1–7, 2019.

MURÚA, M.; JUÁREZ, M.; PRIETO, S.; GASTAMINZA, G.; WILLINK, E. Distribución temporal y espacial de poblaciones larvarias de *Spodoptera frugiperda* (Smith)(Lep.: Noctuidae) en diferentes hospederos en provincias del. **Rev Ind y Agrícola Tucumán**, v. 86, p. 25–36, 2009.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L.; HAY-ROE, M. Inferring the annual migration patterns of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the United States from mitochondrial haplotypes. **Ecol Evol**, v. 2, p. 1458–1467, 2012.

NIU, Y.; QURESHI, J. A.; NI, X.; HEAD, G. P.; PRICE, P. A.; MEAGHER JR, R. L.; KERNS, D.; LEVY, R. YANG, X.; HUANG, F. F2 screen for resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab2-maize in field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) from the southern United States. **J Invertebr Pathol**, v. 138, p. 66–72, 2016.

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

PACHÚ, J. K.; MACEDO, F. C.; SILVA, F. B.; MALAQUIAS, J. B.; RAMALHO, F. S.; OLIVEIRA, R. F.; GODOY, W. A. Imidacloprid-mediated stress on non-Bt and Bt cotton, aphid and ladybug interaction: Approaches based on insect behaviour, fluorescence, dark respiration and plant electrophysiology. **Chemosphere**, v. 263, n. 127561, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127561>

PANNUTI, L. E. R.; BALDIN, E. L. L.; HUNT, T. E.; PAULA-MORAES, S. V. On-plant larval movement and feeding behavior of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on reproductive corn stages. **Env Entom**, v. 45, p. 192–200, 2016.

PANNUTI, L. E. R.; PAULA-MORAES, S. V.; HUNT, T. E.; BALDIN, E. L. L.; DANA, L.; MALAQUIAS, J. V., Plant-to-plant movement of *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize (*Zea mays*). **J Econ Entomol**, v. 109, p. 1125–1131, 2016.

PASHLEY, D. P. Host-associated Genetic Differentiation in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): A Sibling Species Complex? **Ann Entomol Soc Am**, v. 79, p. 898–904, 1986.

PASHLEY, D. P.; HAMMOND, A. M.; HARDY, T. N. Reproductive Isolating Mechanisms in Fall Armyworm Host Strains (Lepidoptera: Noctuidae). **Ann Entomol Soc Am**, v. 85, p. 400–405, 1992.

PIOVESAN, M.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S. V.; CASAGRANDE, M. M.; Phenological patterns of *Spodoptera guenée*, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) is more affected by ENSO than seasonal factors and host plant availability in a Brazilian Savanna. **Int J Biometeorol**, v. 62, p. 413–422, 2018.

PIOVESAN, M.; CARNEIRO, E.; SPECHT, A.; CASAGRANDE, M. M. Where and when? How phenological patterns of armyworm moths (Lepidoptera: Noctuidae) change along a latitudinal gradient in Brazil. **Bull Entomol Res**, p. 490–499, 2019.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2019). URL <http://www.R-project.org/>.

RAMALHO, F. S.; PACHÚ, J. K. S.; LIRA, A. C. S.; MALAQUIAS, J. B.; ZANUNCIO J. C.; FERNANDES, F. S. Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and non-Bt cotton: Implications for evolution and

resistance management. **PLoS One**, n. 9, 2014.

RESENDE, D. C.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; DUARTE, J. O.; SANTOS, F. A.; Adoção da área de refúgio e manejo de resistência de insetos em milho Bt. **Revista de Política Agrícola**, v. 1, p. 119-128, 2014.

RIBEIRO, L. M.; FLAUZINO, D. S.; CECCON, G. Atributos físicos do solo e crescimento de raiz da soja após cultivos de outono-inverno. **Brazilian J Biosyst Eng**, v. 13, p. 36–43, 2019.

RIBEIRO, L. M.; CECCON, G.; MECCHI, I. A.; SANTOS, A. L. F. DOS; MAKINO, P. A.; FACHINELLI, R. Produtividade da soja em sucessão a cultivos de outono-inverno. **Agrarian**, v. 11, p. 120–131, 2018.

RÍOS-DÍEZ, J. D.; SALDAMANDO-BENJUMEA, C. I. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Strains From Central Colombia to Two Insecticides, Methomyl and Lambda-Cyhalothrin: A Study of the Genetic Basis of Resistance. **J Econ Entomol**, v. 104, p. 1698–1705, 2011.

SÁ, V. G. M. DE; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. M. Survival and larval development of *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on alternatives host. **Neotrop Entomol**, v. 38, p. 854–861, 2009.

SCHÖFL, G.; HECKEL, D. G.; GROOT, A.T. Time-shifted reproductive behaviours among fall armyworm (Noctuidae: *Spodoptera frugiperda*) host strains: Evidence for differing modes of inheritance. **J Evol Biol**, v. 22, p. 1447–1459, 2009.

SCOTON, A. M. N.; DEGRANDE, P. E.; DA SILVA, M. B.; JACQUES, F. L.; LOURENÇÃO, A. L. F.; DE SOUZA, E. P. *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) CONTROL AND PRODUCTIVE PERFORMANCE OF BT MAIZE GENOTYPES. **BRAZILIAN J AGRIC - REV AGRIC**, v. 95, n.68, 2020.

SENA, J. A. D.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; FERRÉ, J. Interaction of *Bacillus thuringiensis* Cry1 and Vip3A proteins with *Spodoptera frugiperda* midgut binding sites. **Appl Environ Microbiol**, v. 75, p. 2236–2237, 2009.

SHARANABASAPPA; KALLESWARASWAMY, C. M.; ASOKAN, R.; SWAMY, H. M. M.; MARUTHI, M. S.; PAVITHRA, H. B.; KAVITA HEDGE; SHIVARAY NAVI, PRABHU, S. T.; GOERGEN, G. First report of the Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), an alien invasive pest on maize in India. **Pest Manag Hortic Ecosyst**, v. 24, n. 23–29, 2018.

SILVA-BRANDÃO, K. L.; PERUCHI, A.; SERAPHIM, N.; MURAD, N. F.; CARVALHO, R. A.; FARIAS, J. R.; OMOTO, C. CÔNSOLI, F. L.; FIGUEIRA, A.; BRANDÃO, M. M. Loci under selection and markers associated with host plant and host-related strains shape the genetic structure of Brazilian populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). **PLoS One**, v. 13, p. 1–28, 2018.

SONG, X. P.; LIANG Y., J.; ZHANG, X. Q.; QIN, Z. Q.; WEI, J. J.; LI, Y. R.; WU, J. M. Intrusion of Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Sugarcane and Its Control by Drone in China. **Sugar Tech**, 2020.

SORGATTO, R. J.; BERNARDI, O.; OMOTO, C. Survival and development of *Spodoptera frugiperda* and *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt cotton and implications for resistance management strategies in Brazil. **Environ Entomol**, v. 44, p. 186–192, 2015.

SOUSA, F. F.; MENDES, S. M.; SANTOS-AMAYA, O. F.; ARAÚJO, O. G.; OLIVEIRA, E. E.; PEREIRA, E. J. G. Life-history traits of *Spodoptera frugiperda* populations exposed to low-dose Bt maize. **PLoS One**, v. 11, p. 1–18, 2016.

SOUZA, L. S. B. DE; MOURA, M. S. B. DE; SEDIYAMA, G. C.; SILVA, T. G. F. DA. Eficiência do uso da água das culturas do milho e do feijão-caupi sob sistemas de plantio exclusivo e consorciado no semiárido brasileiro. **Bragantia**, v. 70, p. 715–721, 2011.

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

STORER, F. F.; KUBISZAK, M. E.; KING, E.; THOMPSON, G. D.; SANTOS, A. C. Status of resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: Lessons from Puerto Rico. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 110, p. 294-300, 2012.

TÉLLEZ-RODRÍGUEZ, P.; RAYMOND, B.; MORÁN-BERTOT, I.; RODRÍGUEZ-CABRERA, L.; WRIGHT, D. J.; BORROTO, C. G.; AYRA-PARDO, C. Strong oviposition preference for Bt over non-Bt maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. **BMC Biol**, v. 12, 2014.

NAGOSHI, R. N.; ROSAS-GARCÍA, N. M.; MEAGHER, R. L.; FLEISCHER, S. J.; WESTBROOK, J. K.; SAPPINGTON, T. W.; HAY-ROE, M.; THOMAS, J. M. G.; MURÚA, G. M. Haplotype profile comparisons between *Spodoptera frugiperda* Lepidoptera: Noctuidae) populations from Mexico with those from Puerto Rico, South America, and the United States and their implications to migratory behavior. **J Econ Entomol**, v. 08, p. 135–144, 2015.

ZALUCKI, M. P.; CLARKE, A. R.; MALCOLM, S. B. Ecology and Behavior of First Instar Larval Lepidoptera. **Annu Rev Entomol**, v. 47, p. 361–393, 2002.

CAPÍTULO 2

Movimento larval de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) entre plantas de milho e *Urochloa ruziziensis*

RESUMO

O movimento larval de *Spodoptera frugiperda* entre plantas pode influenciar na sobrevivência de insetos em cultivos de milho Bt e contribuir para a evolução da resistência principalmente pela ingestão de doses subletais de toxinas. O consórcio de milho com *Urochloa ruziziensis* tem sido adotado em toda a região do Cerrado Brasileiro e o entendimento de como o movimento larval de *S. frugiperda* ocorre nesse sistema é fundamental para a manutenção de tecnologias Bt eficientes. Assim, objetivou-se, com esse trabalho, verificar como é o padrão de movimentação de neonatas de *S. frugiperda* entre plantas de milho e *U. ruziziensis*, e se o movimento larval interfere na sobrevivência desses insetos. Foram realizados dois estudos em semi-campo em Dourados-MS na safra de Verão de 2018/2019 e Outono/Inverno de 2019. Lagartas recém-eclodidas foram depositadas em plantas centrais de parcelas semeadas com uma planta central de milho Bt, milho não-Bt ou *U. ruziziensis*, com entorno de 48 plantas de milho ou *U. ruziziensis*. Após 5 dias da infestação foram contabilizadas as lagartas recuperadas e a posição que se encontravam, além do nível de dano em todas plantas da parcela. Foi possível observar que as lagartas se movimentam entre plantas independente da espécie onde foram infestadas e que a sobrevivência dos insetos provenientes de plantas Bt é muito menor que a de insetos provenientes das plantas não-Bt.

Palavras-chave: Comportamento, Braquiária, *Brachiaria ruziziensis*, Preferência; Dispersão; Lagarta-do-cartucho.

ABSTRACT

The larval movement of *Spodoptera frugiperda* between plants can influence the survival of insects in Bt corn crops and contribute to the evolution of resistance mainly through the ingestion of sublethal doses of toxins. The corn intercropped with *Urochloa ruziziensis* has been adopted throughout the Brazilian Cerrado region and the understanding of how the larval movement of *S. frugiperda* occurs in this system is essential for the maintenance of efficient Bt technologies.

Thus, the objective of this work was to verify how the movement pattern of neonates of *S. frugiperda* is between corn plants and *U. ruziziensis* and if the larval movement interferes with the survival of these insects. Two semi-field studies were carried out in Dourados-MS in the summer crop season of 2018/2019 and the Fall / Winter crop season of 2019. Newly hatched larvae were infested in central plants of the plots sowed with a central plant of Bt corn, non-Bt corn, or *U. ruziziensis* surrounded by 48 corn or *U. ruziziensis* plants. After 5 days of the infestation, the recovered larvae and their position were counted, in addition to the level of damage in all plants in the plot. It was possible to observe that the larvae moved between plants regardless of the species of the plant where they were infested and that the survival of insects from Bt plants is much less than that of insects from non-Bt plants.

Keywords: Behavior; Ruzigrass; *Brachiaria ruziziensis*; Preference; Dispersion; Fall Armyworm;

1. INTRODUÇÃO

O consórcio de milho com braquiária é uma das alternativas tecnológicas que tem sido utilizada para melhorar o sistema de cultivo agrícola, principalmente nas regiões do Cerrado Brasileiro. O principal objetivo desse tipo de cultivo é incrementar o aporte de matéria orgânica nos solos em cultivos de Plantio Direto, aumentando a capacidade de retenção de água nos solos, suprimindo plantas daninhas de difícil manejo (como a *Conyza* sp., buva) (MECHI et al., 2018), além de melhorar as características físicas, químicas e biológicas desses solos, inclusive com consequências positivas no balanço de carbono. Inúmeros são os benefícios que o Plantio Direto traz para regiões com menor disponibilidade hídrica e de temperaturas altas, como ocorrem no Centro-Oeste do país e regiões agrícolas da Bahia, Maranhão, Piauí, Tocantins e Pará. Nessas regiões, a palhada remanescente dos cultivos não é suficiente para manter a qualidade dos solos em sistema de Plantio Direto. Assim, com o cultivo consorciado, foi possível aumentar a quantidade de matéria orgânica nesses solos, aumentando, por exemplo, a produtividade do cultivo de soja em sucessão (BALBINOT JUNIOR et al., 2017; RIBEIRO et al., 2018).

Existem algumas questões que ainda necessitam ser investigadas, nesta modalidade de cultivo, do ponto de vista fitossanitário. São poucos os estudos relacionados ao manejo de pragas e doenças no sistema de cultivo consorciado de milho e braquiária, por exemplo. Tendo em vista a ocorrência de pragas, a lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)

(Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga desfolhadora associada à cultura e que tem também como hospedeira em espécies forrageiras como a *Urochloa ruziziensis* (*Brachiaria ruziziensis*), principal espécie forrageira utilizada no consórcio com o milho no Brasil (MACHADO et al., 2013).

Os principais métodos de controle de *S. frugiperda* hoje em dia têm sido a adoção de cultivares híbridas de milho que expressam toxinas de Bt e inseticidas químicos. Apesar disso, já foi relatada a ocorrência de resistência aos principais eventos de Bt disponíveis no mercado, tendo ainda apenas eventos que expressam a proteína Vip3aA20 como eficientes no controle dessa praga (SCOTON et al., 2020). Devido a isso, a manutenção da eficiência da tecnologia no campo é fundamental para o cultivo da cultura no Brasil, pois os prejuízos causados pela *S. frugiperda* são muito severos e podem diminuir muito a produtividade das lavouras.

A durabilidade das tecnologias de milho Bt depende do número de toxinas Bt piramidadas, eficiência individual de cada toxina Bt a uma praga-alvo (CARROLL et al., 2012), e da implementação de uma estratégia de manejo de resistência de insetos (MRI) projetada para retardar a evolução da resistência da praga às toxinas Bt. As estratégias de manejo da resistência a insetos para os produtos de milho Bt têm se apoiado, em grande parte, em uma abordagem de alta dose/refúgio (Bates et al., 2005) e piramidação de proteínas. Esta abordagem pressupõe que a resistência às toxinas Bt é funcionalmente recessiva na população de pragas, que cada toxina Bt isolada ou em combinação (pirâmides) são individualmente altamente eficientes contra a mesma praga, e que uma fonte de indivíduos suscetíveis está disponível para acasalar com quaisquer sobreviventes da cultura Bt (ALSTAD e ANDOW, 1995; BOURGUET et al., 1996; GOULD, 1998).

O refúgio no saco (*RIB*[®]), ato de adicionar uma porcentagem de sementes não-Bt no saco com sementes melhoradas geneticamente, que é utilizado em alguns Estados dos Estados Unidos da América, fornece uma alternativa à tática de refúgio estruturado que garante aos produtores estar em conformidade com os requisitos de refúgio exigidos, e mitiga o risco representado pelos produtores que não estão em conformidade com os requisitos de refúgio estruturado, certificando-se de que um refúgio não-Bt está presente para retardar a evolução da resistência (KENNEDY et al., 1987; GOULD, 1996). Nesse sentido, é possível comparar o *RIB*[®] ao sistema de plantio consorciado de milho Bt com *U. ruziziensis* devido à presença da planta com tecnologia Bt e sem tecnologia Bt na mesma área, mas em uma quantidade muito maior de

plantas não-Bt (forrageira). A *U. ruziziensis* permite a sobrevivência de indivíduos de *S. frugiperda* durante todo o ciclo de cultivo (JACQUES et al., 2021), o que possibilita utilizá-la como um refúgio alternativo, com maior aceitação por parte do produtor por não interferir diretamente no manejo do milho, como ocorre em cultivos que adotam o refúgio estruturado, por exemplo, onde a área semeada com o milho não-Bt é normalmente ao lado da com milho Bt (máximo de 800 m de distância).

No entanto, a configuração de *RIB*[®] não é atualmente recomendada para os plantios de milho no Brasil devido principalmente às características da principal praga da cultura, a *S. frugiperda*. A *S. frugiperda* apresenta alta movimentação entre plantas e tem duas formas de dispersão principais, que é o balonismo e o caminhamento. Ambos os mecanismos ocorrem principalmente nos primeiros instares larvais, onde a dispersão em busca de alimento e abrigo, além da fuga para evitar o canibalismo, são características que garantem uma maior probabilidade de sobrevivência desses indivíduos.

O movimento larval em um cultivo com uma mistura de sementes de Bt e sementes não-Bt pode potencialmente aumentar a taxa em que a resistência evolui em comparação com um refúgio estruturado (MALLET e PORTER, 1992). De fato, as misturas de sementes têm sido muitas vezes consideradas inferiores ao refúgio estruturado e, por esta razão (HALCOMB et al., 1996), o *RIB*[®] foi desencorajado como uma estratégia de refúgio no Brasil.

Essas preocupações podem ser reduzidas com culturas de Bt piramidadas que contêm múltiplas toxinas eficientes, tornando menos provável que as lagartas possam se mover com sucesso de plantas não-Bt para Bt dentro de uma mistura de sementes à campo.

Nesse sentido, é necessário compreender como o movimento larval entre plantas de milho Bt e plantas de *U. ruziziensis* pode interferir na sobrevivência e evolução da resistência às tecnologias de milho Bt quando consorciados. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar como é o padrão comportamental de movimentação de lagartas de *S. frugiperda* em cultivos de milho Bt consorciados com *U. ruziziensis* e se a dispersão entre plantas interfere na sobrevivência dos insetos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para determinar o movimento larval de *S. frugiperda* entre plantas de milho e *U. ruziziensis* foram realizados dois estudos em duas épocas no ano de 2019. Ambos os estudos

foram realizados à campo no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), sendo o primeiro instalado em abril de 2019 e o segundo em outubro de 2019, correspondendo à safra de Outono-Inverno e safra de Verão, respectivamente.

Os estudos foram realizados no delineamento em blocos casualizados com 4 repetições. As parcelas consistiram em um quadrado com 49 plantas com espaçamento de 17 cm entre si, distribuídas em 7 linhas e 7 colunas, conforme mostra a Figura 1. O espaçamento entre plantas foi baseado em uma distribuição ideal entre plantas em uma população de 65 mil plantas.ha⁻¹ de milho e 5 plantas.m⁻¹ de *U. ruziziensis*.

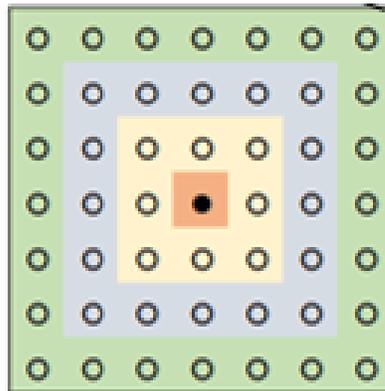


Figura 1. Unidade experimental para o estudo de movimento larval de *Spodoptera frugiperda* entre plantas de milho e *Urochloa ruziziensis*, consistindo em 49 plantas espaçadas entre si a 17 cm.

Foram semeadas duas sementes de milho por ponto da parcela onde continha milho como tratamento (Tabela 1), com o objetivo de garantir pelo menos uma planta emergida por ponto. Após a emergência das plântulas foi feito o “raleio” e mantida apenas a planta mais vigorosa, obtendo-se uma planta por ponto. Para a *U. ruziziensis* foi semeado por ponto 5 gramas de sementes também com o objetivo de garantir pelo menos 1 planta por ponto da parcela.

Quando as plantas de milho atingiram o estágio fenológico V4, foi feita a infestação com as lagartas de *S. frugiperda* nos dois experimentos. Foi realizado o monitoramento das plantas previamente para constatar que não havia outros insetos além dos que foram infestados artificialmente.

Tabela 1. Lista de tratamentos do ensaio de movimento larval de *Spodoptera frugiperda* em milho Bt e não-Bt e *Urochloa ruziziensis*.

Tratamento	Descrição
T1:	49 pontos apenas com milho Bt
T2:	49 pontos apenas com milho não-Bt
T3:	49 pontos apenas com <i>U. ruziziensis</i>
T4:	Milho Bt (planta central) + 48 pontos de <i>U. ruziziensis</i> (adjacência)
T5:	Milho não-Bt (planta central) + 48 pontos de <i>U. ruziziensis</i> (adjacência)
T6:	<i>U. ruziziensis</i> (planta central) + 48 pontos de milho Bt (adjacência)
T7:	<i>U. ruziziensis</i> (planta central) + 48 pontos de milho não-Bt (adjacência)

As lagartas foram obtidas de diferentes posturas de *S. frugiperda* de uma colônia do Laboratório de Entomologia Aplicada da UFGD criadas desde 2009, apresentando ainda suscetibilidade a todos os eventos de Bt. Inicialmente, as lagartas foram individualizadas em copos de plástico contendo dieta artificial (KASTEN JR; PRECETI; PARRA, 1978) até atingirem a fase de pupa. Após esse período, as pupas foram sexadas e separadas em número de 20 casais em câmaras de tubo de PVC para acasalamento. Os tubos de PVC foram recobertos internamente com papel sulfite para substrato de oviposição das mariposas e cobertos com tecido do tipo “voil”, para evitar que os insetos escapassem. As mariposas foram alimentadas com solução de mel (10%) com água destilada, em pedaços de algodão embebidos na solução e disponibilizados em copos plásticos dentro das câmaras. A solução de mel e o substrato de oviposição foram substituídos diariamente e as posturas individualizadas em copos de plástico com tampa. As câmaras com as mariposas foram mantidas em sala de criação com temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ e fotoperíodo de 12 horas durante todo o período reprodutivo dos insetos.

Foram selecionadas posturas do terceiro dia de oviposição das mariposas com o tamanho correspondente a ± 200 ovos e individualizadas em copos de plástico com tampa, considerando uma postura por repetição de cada tratamento, totalizando 28 posturas. Os copos também foram mantidos em sala climatizada de criação do LEA-UFGD até o momento da eclosão das lagartas. Após 24 horas de eclodidas, 150 lagartas foram infestadas na planta central de cada parcela no período do final da tarde para evitar que as neonatas ficassem expostas ao sol durante o primeiro momento de contato com as plantas.

Cinco dias após a infestação das lagartas todas as plantas de cada parcela foram vistórias de maneira destrutiva para contabilizar o número de lagartas recuperadas e qual era sua posição em relação à planta central (infestada) no momento. Também foi feita avaliação do nível de injúrias em todas as plantas de todas as parcelas utilizando-se a escala de Davis et al. (1992) para as plantas de milho e a escala de Jacques et al. (2018) para as plantas de *U. ruziziensis*.

Para a análise estatística dos dados, os resultados dos dois experimentos foram combinados e analisados conjuntamente, considerando o segundo ensaio como uma repetição. Foram calculados, a partir do número de lagartas recuperadas e sua posição, a porcentagem de aceitação da planta hospedeira infestada e a porcentagem de dispersão das lagartas, além da média de nível de injúrias para as plantas dentro de cada tratamento. Os dados foram analisados através do software R utilizando-se modelos lineares generalizados e os contrastes comparados a 0,001% gerados pelo modelo quase-binomial (IC95%) para os dados de dispersão. Os dados de nível de injúrias foram comparados pelo teste de Friedman ($\alpha= 0,05$).

A dispersão espacial das lagartas foi mensurada conforme o registro do número total de lagartas em cada posição cartesiana (posição “x” e “y”) em cada parcela. Para tal análise, foi utilizada uma avaliação visual do mapa de dispersão por meio de scatter plots. Os gráficos foram produzidos com a função *ggplot* do pacote *ggplot2* do R.

Os dados de dispersão foram analisados utilizando-se modelos lineares generalizados e as médias foram contrastadas pelo modelo quase-binomial. A qualidade do ajuste do modelo foi verificada com um gráfico meio normal do pacote *hnp* do R (MORAL et al., 2017). As médias foram contrastadas com o uso da função *glht* do pacote *multcomp* do R (HOTHORN et al., 2008). Os dados de nível de injúrias foram submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade. Mesmo transformando os dados de injúria, as pressuposições da análise de variância não foram atendidas. Por isto, as médias foram comparadas pelo teste não paramétrico de Friedman ($\alpha= 0,05$), por meio da função *friedman* do pacote *agricolae* do R (MENDIBURU; MENDIBURU, 2019).

3. RESULTADOS

A análise visual do padrão de dispersão espacial revelou que houve um padrão heterogêneo de dispersão das lagartas nas parcelas conforme o tratamento. A dispersão nos

tratamentos com milho Bt solteiro ou consorciado foi muito baixa. Em alguns pontos, ocorreram sobreposição da dispersão entre os tratamentos milho não-Bt e não-Bt consorciado com braquiária, embora o número acumulado de larvas foi superior em milho não-Bt solteiro em relação ao sistema consorciado (Figura 2). A análise descritiva do boxplot confirma a variabilidade observada na análise da distribuição espacial das larvas nas parcelas (Figura 3).

De maneira geral, foi baixa a porcentagem de lagartas recuperadas em todos os tratamentos após os 5 dias da infestação. Apesar disso, foi possível observar que, mesmo com baixa permanência nas demais configurações de tratamentos, as lagartas se alimentaram em várias plantas de toda a parcela, com exceção do tratamento onde havia apenas milho Bt. Ou seja, o consumo foliar foi semelhante em todos os tratamentos, com exceção do milho Bt, possivelmente pela alta letalidade que ocorre em lagartas neonatas que se alimentem da proteína Vip3Aa20. O único tratamento que se assemelhou ao tratamento 1, com todas as plantas sendo milho Bt, foi o tratamento 5, na qual a planta central era caracterizada por uma planta de milho não-Bt e as das adjacências de *U. ruziziensis*. Apesar disso, não apresentou diferença estatística significativa dos demais tratamentos (Tabela 2).

Nos tratamentos nos quais o milho não-Bt estava presente nas plantas adjacentes (T2 e T7), foram encontradas maior permanência de lagartas nas plantas de milho, diferindo estatisticamente dos demais, ou seja, em relação àqueles tratamentos com milho Bt e *U. ruziziensis*. Apesar de se alimentarem em *U. ruziziensis*, percebe-se menor preferência pela planta, e os insetos buscam mais alimento nas adjacências. Com relação a menor recuperação de insetos em plantas de milho Bt, pode-se dizer que este fato ocorreu em decorrência da mortalidade destes indivíduos após se alimentarem de Bt, ou do efeito de deterrência ocasionado por estas plantas, forçando estes insetos a buscar alimento além dos limites da parcela.

Nos tratamentos com *U. ruziziensis* como planta central e milho Bt nas adjacências, as lagartas se movimentaram mais em relação ao tratamento com apenas milho Bt, pois houve uma maior dispersão, e se alimentaram mais, pois houve o consumo foliar estatisticamente semelhante ao dos tratamentos com milho não-Bt nas adjacências, apesar do menor número de lagartas recuperadas.

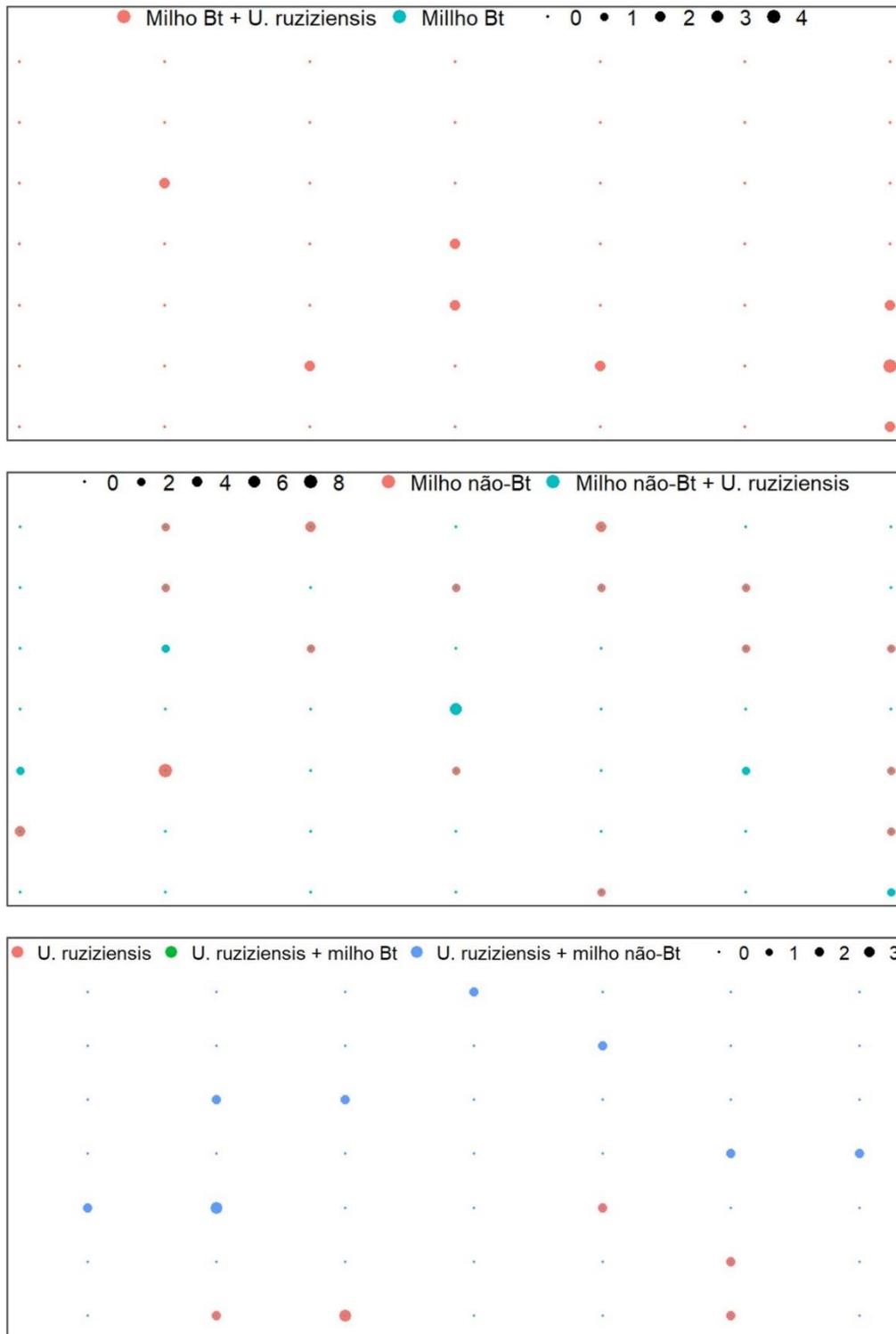


Figura 2 – Scatter plot da distribuição espacial de larvas de *Spodoptera frugiperda* nas parcelas dos seguintes tratamentos: apenas Milho Bt; apenas Milho não-Bt; apenas *U. ruziziensis*; Milho Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); Milho não-Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); *U. ruziziensis* (planta central) + milho Bt (nas adjacências) e *U. ruziziensis* (planta central) + milho não-Bt (nas adjacências).

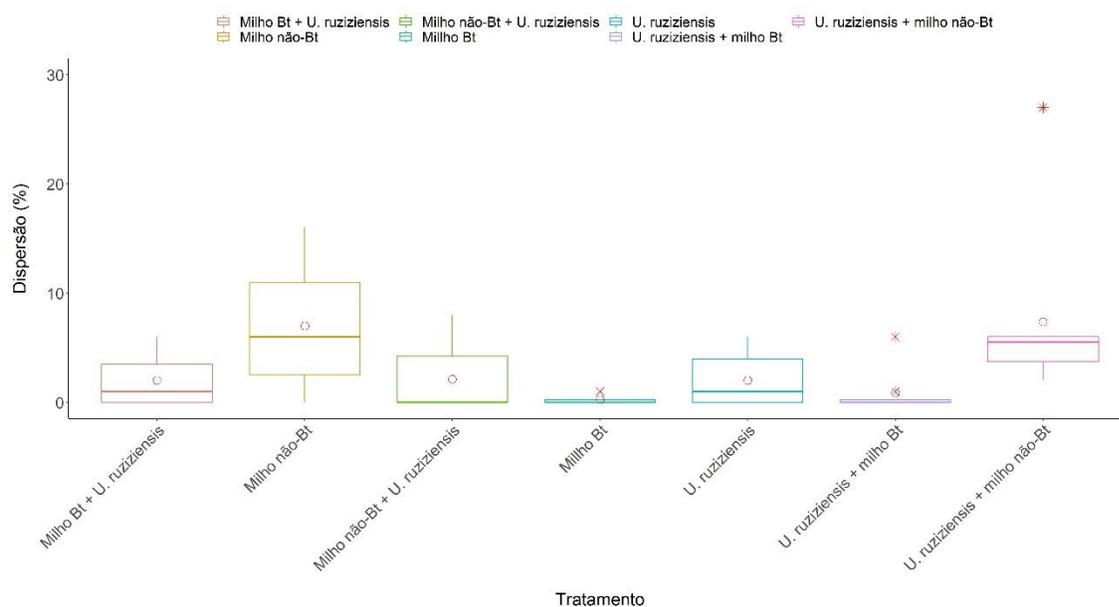


Figura 3 - Boxplot da dispersão (%) de larvas de *Spodoptera frugiperda* nos seguintes tratamentos: apenas Milho Bt; apenas Milho não-Bt; apenas *U. ruziziensis*; Milho Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); Milho não-Bt (planta central) + *U. ruziziensis* (nas adjacências); *U. ruziziensis* (planta central) + milho Bt (nas adjacências) e *U. ruziziensis* (planta central) + milho não-Bt (nas adjacências).

Tabela 2 – Dispersão larval (Média ± EP) da planta natal para as adjacências e nível de dano de larvas de *Spodoptera frugiperda* nas plantas adjacentes

Tratamento	Dispersão ¹	Nível de Dano	Rank ²
T1: Apenas Milho Bt	0,1667 ± 0,0011 b	1,2500 ± 0,4910 c	05,00
T2: Apenas Milho não-Bt	4,6667 ± 0,0139 a	2,2084 ± 0,3616 b	17,00
T3: Apenas <i>U. ruziziensis</i>	1,3333 ± 0,0056 b	2,4366 ± 0,2094 ab	20,50
T4: Milho Bt (planta central) + <i>U. ruziziensis</i> (adjacência)	1,3333 ± 0,0058 b	2,1159 ± 0,3502 b	15,00
T5: Milho não-Bt (planta central) + <i>U. ruziziensis</i> (adjacência)	1,4167 ± 0,0074 b	2,0933 ± 0,1487 bc	13,00
T6: <i>U. ruziziensis</i> (planta central) + milho Bt (adjacência)	0,5833 ± 0,0050 b	2,1327 ± 0,5487 b	14,50
T7: <i>U. ruziziensis</i> (planta central) + milho não-Bt (adjacência)	4,9167 ± 0,0190 a	2,7542 ± 0,2308 a	27,00

Médias seguidas pelas mesmas letras (dentro da mesma coluna), não diferem entre si ($P=0,05$). ¹As médias foram contrastadas mediante a função glht do pacote multcomp do R, utilizando o modelo linear generalizado do tipo quase-binomial. ²Ranks foram comparados pelo teste não paramétrico de Friedman ($\alpha=0,05$).

4. DISCUSSÃO

A proteína Vip3A, que é produzida na fase vegetativa da bactéria *Bacillus thuringiensis*, tem se mostrado ser a mais eficiente para o controle de *Spodoptera frugiperda* (ZHU et al., 2019; YANG et al., 2019; SCOTON et al., 2020), dada a perda de eficácia de proteínas Cry. Além disso, uma das vantagens de sua utilização é o fato de a proteína ter um diferente modo de ação quando comparada a qualquer outra proteína Cry (ESTRUCH et al., 1996; LEE et al., 2003, LEE et al., 2006; KURTZ, 2010). Também, estudos já demonstraram não haver resistência cruzada entre as proteínas Vip3A e as demais proteínas Cry que já apresentam populações resistentes de *S. frugiperda* em diversos países. Nesse sentido, a utilização de híbridos de milho que expressem a proteína Vip é interessante quando consorciado, pois atende uma das premissas que torna o modelo/configuração de consórcio eficiente como refúgio alternativo, que é a alta eficácia de controle em decorrência da expressão em alta dose das toxinas de Bt (BURKNESS et al., 2010).

Uma das preocupações da utilização de mistura de sementes (refúgio no saco = RIB[®]) ou a consorciação de plantas sem Bt é que o movimento larval de insetos decorrentes de plantas não-Bt para plantas Bt pode causar uma mortalidade adicional de insetos suscetíveis. Assim, utilizando-se de híbridos com a expressão em alta dose de toxinas de Bt nas diferentes partes da planta de milho durante todo o seu ciclo, pode-se evitar a sobrevivência de insetos que migrem em maiores ínstares para as plantas Bt ou mesmo os que iniciam a alimentação nas plantas Bt e migram para outras plantas não-Bt. Diminuindo desta forma a sobrevivência de insetos por subdosagem, que poderia acarretar na evolução de populações resistentes mais rapidamente. Como ocorreu nos tratamentos nos quais a planta central era de milho Bt, não houve uma maior sobrevivência das neonatas após migrarem para as plantas de *U. ruziziensis*, mesmo sendo observado o consumo foliar da forrageira semelhante ao tratamento com milho não-Bt.

Este resultado é semelhante ao encontrado com lagartas de *Helicoverpa zea* em estudos realizados nos EUA, onde foram encontradas apenas 3 lagartas pequenas sobreviventes em milhos não-Bt (com mínimo dano em espigas) semeados no entorno de uma planta de milho Bt (expressando a proteína Vip3Aa20) onde foi feita a infestação com 35 lagartas. Lagartas de *H. zea*, mesmo em ínstares maiores, não sobreviveram em misturas de sementes de milho Bt e não-Bt expressando a proteína Vip3A (DIMASE et al., 2020), demonstrando a eficiência de controle da proteína e, dessa forma, possibilitando extrapolar tal informação para configurações como o consórcio de milho com *U. ruziziensis*. É possível afirmar, assim, que lagartas de *S. frugiperda*

que migrem de plantas de *U. ruziziensis* para o milho Bt em ínstares maiores dificilmente sobreviverão, não gerando um impacto negativo na utilização da forrageira em consórcio como um refúgio alternativo. Dados de campo também comprovam essa eficiência devido ao mínimo número de indivíduos encontrados sobrevivendo em plantas de milho Bt (expressando a proteína Vip3A) consorciado com *U. ruziziensis* (JACQUES et al., 2021).

O movimento larval de *S. frugiperda* já foi estudado em simulações de contaminação de campo de algodão Bt e não-Bt e foi possível observar que a maior movimentação de neonatas ocorreu em plantas que expressavam a toxina de Bt após o período de 18h de exposição, quando comparadas a plantas não-Bt (MALAQUIAS et al., 2017). Considerando a menor recuperação de insetos nos tratamentos com milho não-Bt, apesar do consumo foliar observado, indica que houve uma maior movimentação dos insetos quando comparados ao tratamento com milho não-Bt.

5. CONCLUSÃO

Neonatas de *S. frugiperda* se movimentam da planta natal independente da espécie hospedeira ou tecnologia do híbrido de milho utilizada.

A sobrevivência de insetos provenientes de plantas não-Bt (milho não-Bt e *U. ruziziensis*) é maior quando comparado aos insetos provenientes de plantas Bt.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSTAD, D. N.; ANDOW, D. A. Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. **Science**, v. 268, p. 1894-1896, 1995.

BALBINOT JUNIOR, A. A.; SANTOS, J. C. F.; DEBIASI, H.; YOKOYAMA, A. H. Contribution of roots and shoots of *Brachiaria* species to soybean performance in succession. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília , v. 52, n. 8, p. 592-598, Aug. 2017 <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2017000800004>

BOURGUET, D.; PROUT, M.; RAYMOND, M. Dominance of insecticide resistance presents a plastic response. **Genetics**, v. 143, p. 407-416, 1996.

BURKNESS, E. C.; DIVELY, G.; PATTON, T., MOREY, A. C.; HUTCHISON, W. D. Novel Vip3A *Bacillus thuringiensis* (Bt) maize approaches high-dose efficacy against *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) under field conditions. **GM crops**, v. 1, p. 1–7, 2010.

DIMASE, M.; OYEDIRAN, I.; BROWN, S.; WALKER, W.; GUO, J.; YU, W.; ZHANG, Y.; CHEN, J.; WEN, Z.; HUANG, F. Larval movement and survival of *Helicoverpa zea* (Boddie) in seed blends of non-Bt and Bt maize containing Agrisure Viptera® trait: Implications for Resistance management. **Crop Protection**, v. 138, 2020.

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. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** v. 93, p. 5389–5394, 1996.

GOULD, F. **Deploying pesticidal engineered crops in developing countries**. In: Persley, G.J. (Ed.), *Biotechnology and Integrated Pest Management*. CABI, Wallingford, UK, pp. 264-293, 1996.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 43, p. 701-726, 1998.

HALCOMB, J. L.; BENEDICT, J. H.; COOK, B.; RING, D. R. Survival and growth of bollworm and tobacco budworm on nontransgenic and transgenic cotton expressing a Cry1A insecticidal protein (Lepidoptera: Noctuidae). **Environ. Entomol.**, v. 25, p. 250-255, 1996.

HOTHORN, T.; BRETZ, F.; WESTFALL, P. Simultaneous inference in general parametric models. **Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences**, v. 50, n. 3, p. 346-363, 2008.

JACQUES, F. L.; DEGRANDE, P. E.; GAUER, E.; MALAQUIAS, J. B.; SCOTON, A. M. N. Intercropped Bt and non-Bt corn with ruzigrass (*Urochloa ruziziensis*) as a tool to resistance management of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science**, 2021.

KASTEN JR, P.; PRECETI, A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 53, n. ½, p. 68-78, 1978.

KENNEDY, G. G.; GOULD, F.; DEPONTI, O. M. B.; STINNER, R. E. Ecological, agricultural, genetic and commercial considerations in the deployment of insect-resistant germplasm. **Environ. Entomol.**, v. 16, p. 327-338, 1987.

KURTZ, R. W. A review of Vip3A mode of action and effects on Bt Cry protein resistant colonies of lepidopteran larvae. **Southwest. Entomol.** v. 35, p. 391–394, 2010.

LEE, M. K., WALTERS, F. S., HART, H., PALEKAR, N., CHEN, J. S. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab delta-endotoxin. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 69, p. 4648–4657, 2003.

LEE, M. K., MILES, P., CHEN, J. S. Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 339, 1043–1047, 2006

MACHADO, L. A. Z.; CECATO, U.; JANK, L.; VERZIGNASSI, J. R.; VALLE, C. B. **Identificação e Características de Forrageiras Perenes para Consórcio com Milho.** In: CECCON, G. Consórcio Milho-Braquiária, Brasília-DF: Embrapa, 2013. 175 p.

MALAQUIAS, J. B.; GODOY, W. A. C.; GARCIA, A. G.; RAMALHO, F. S.; OMOTO, C. Larval Dispersal of *Spodoptera frugiperda* Strains on Bt Cotton: A Model for Understanding Resistance Evolution and Consequences for its Management. **Scientific Reports**, v. 7, n. 16109, 2017.

MALLET, J.; PORTER, P.; Preventing insect adaptation to insect-resistant crops are seed mixtures or refugia the best strategy? **Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, v. 250, p. 165-169, 1992.

MECHI, I. A.; SANTOS, A. L. F.; RIBIRO, L. M.; CECCON, G., Infestação de plantas daninhas de difícil controle em função de anos de consórcio milho-braquiária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 5, n. 3, p.49-54, jul./set. 2018. ISSN 2358-6303.

MENDIBURU, F.; MENDIBURU, M. F. Package ‘agricolae’. R Package, Version, p. 1.2-1, 2019.

MORAL, R. A.; HINDE, J.; DEMÉTRIO, C. G. B. Half-normal plots and overdispersed models in R: The hnp package. **Journal of Statistical Software**, v. 81, n. 10, 2017.

RIBEIRO, L. M.; CECCON, G.; MECHE, I. A.; SANTOS, A. L. F.; FACHINELLI, R. MAKINO, P. A. Produtividade da soja em sucessão a cultivos de outono-inverno. **Revista Agrarian**, v. 11, n. 40, p. 120-131, 2018

RIBEIRO, L. M.; SOUZA, W. D.; CECCON, G. Atributos químicos do solo e produtividade da soja após milho, braquiária e feijão-caupi em latossolo na região do cerrado. **Colloquium Agrariae**, v. 16, n.2, Mar-Abr, p.16-28, 2020.

SCOTON, A. M. N.; DEGRANDE, P. E.; SILVA, M. B.; JACQUES, F. L.; LOURENÇÃO, A. L. F.; SOUZA, E. P. *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) control and productive performance of Bt maize genotypes. **Brazilian J. Agric.**, v. 98, n.68, 2020.

ANEXOS

Anexo 1. Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* por planta de milho (Bt e não-Bt) e *Urochloa ruziziensis* em cultivos solteiro e consorciado nas safras de 2017/2018, 2018 e 2018/2019. Dourados-MS, Brasil, 2020.

Safra 1 (Verão 2017/2018)

Avaliação	Estádio Fenológico ¹	DAE	Milho não-Bt solteiro		Milho Bt solteiro		<i>U. ruziziensis</i> solteira		Milho não-Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt		Milho Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt	
			n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP	
1	V5	25	0,400 ± 0,134	Aba ²	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ce	0,350 ± 0,131	ABab	0,267 ± 0,117	Bab	0,050 ± 0,050	BCa	0,600 ± 0,123	ABa
2	V7	29	0,100 ± 0,069	Bab	0,150 ± 0,150	Ba	0,200 ± 0,074	Bbcde	0,300 ± 0,128	ABab	0,233 ± 0,092	ABbc	0,050 ± 0,050	Ba	0,533 ± 0,150	Aab
3	V9	38	0,150 ± 0,082	Bab	0,000 ± 0,000	*	0,567 ± 0,177	Aab	0,150 ± 0,082	Bab	0,333 ± 0,130	ABab	0,050 ± 0,050	Ba	0,333 ± 0,100	Babc
4	V9	45	0,100 ± 0,069	Bab	0,000 ± 0,000	*	0,300 ± 0,098	ABbc	0,200 ± 0,092	Bab	0,300 ± 0,098	ABab	0,100 ± 0,069	Ba	0,233 ± 0,124	Abcd
5	R1	52	0,150 ± 0,109	Bab	0,000 ± 0,000	*	0,300 ± 0,098	ABbc	0,400 ± 0,169	ABa	0,567 ± 0,124	Aa	0,150 ± 0,082	Ba	0,233 ± 0,079	ABbcd
6	R1	59	0,150 ± 0,082	ABab	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Be	0,350 ± 0,109	Aab	0,333 ± 0,130	Aab	0,000 ± 0,000	*	0,200 ± 0,121	ABcd
7	R2	63	0,050 ± 0,050	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,167 ± 0,097	Acde	0,200 ± 0,117	Aab	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,056	Acd
8	R3	72	0,150 ± 0,109	ABab	0,000 ± 0,000	*	0,467 ± 0,164	Aab	0,300 ± 0,105	ABab	0,167 ± 0,069	Bbc	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,056	Bcd
9	R4	79	0,100 ± 0,069	BCab	0,000 ± 0,000	*	0,467 ± 0,104	Aab	0,100 ± 0,069	BCab	0,300 ± 0,098	ABab	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,056	Ccd
10	R4	86	0,050 ± 0,050	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,767 ± 0,196	Aa	0,000 ± 0,000	*	0,200 ± 0,088	Bbc	0,000 ± 0,000	*	0,067 ± 0,067	Bd
11	R5	93	0,100 ± 0,069	Aab	0,000 ± 0,000	*	0,267 ± 0,106	Abc	0,050 ± 0,050	Ab	0,200 ± 0,111	Abc	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ad
12	R6	101	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,133 ± 0,063	Acde	0,100 ± 0,069	Aab	0,133 ± 0,063	Abc	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ad
13	R6	107	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,056	Acde	0,100 ± 0,069	Aab	0,033 ± 0,033	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ad
14	R6	115	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*

Safra 2 (Outono/Inverno 2018)

Avaliação	Estádio Fenológico ¹	DAE	Milho não-Bt solteiro		Milho Bt solteiro		<i>U. ruziziensis</i> solteira		Milho não-Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt		Milho Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt	
			n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP	
1	V4	27	0,250 ± 0,099	Abcd ²	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,069	Ac	0,033 ± 0,033	Ab	0,050 ± 0,050	Aa	0,000 ± 0,000	*
2	V5	34	0,500 ± 0,170	Aab	0,150 ± 0,082	ABa	0,000 ± 0,000	*	0,200 ± 0,092	ABbc	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,100	Ba	0,267 ± 0,095	ABab
3	V7	41	0,800 ± 0,277	Aa	0,050 ± 0,050	BCa	0,030 ± 0,033	Cb	0,300 ± 0,128	ABabc	0,233 ± 0,079	BCab	0,150 ± 0,082	Bca	0,300 ± 0,085	Bab
4	V8	47	0,300 ± 0,105	ABbcd	0,150 ± 0,082	Ba	0,333 ± 0,100	ABa	0,650 ± 0,182	Aa	0,533 ± 0,142	Aa	0,100 ± 0,069	Ba	0,433 ± 0,104	ABbc

5	V10	54	0,400 ± 0,169	ABabc	0,000 ± 0,000	*	0,167 ± 0,069	ABab	0,400 ± 0,169	Aabc	0,233 ± 0,079	Aab	0,050 ± 0,050	Ba	0,100 ± 0,056	ABabc
6	VT	61	0,450 ± 0,170	Aabc	0,200 ± 0,117	ABa	0,433 ± 0,196	Aa	0,150 ± 0,082	ABc	0,000 ± 0,000	*	0,050 ± 0,050	Ba	0,200 ± 0,088	Bbc
7	R1	69	0,600 ± 0,184	Aab	0,000 ± 0,000	*	0,067 ± 0,046	Bb	0,300 ± 0,128	ABabc	0,200 ± 0,088	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,074	*
8	R1	77	0,800 ± 0,186	Aa	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Cb	0,300 ± 0,105	Babc	0,033 ± 0,033	Cb	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
9	R2	83	0,350 ± 0,167	Aabcd	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Bb	0,550 ± 0,170	Aabc	0,033 ± 0,033	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
10	R2	90	0,250 ± 0,099	Abcd	0,000 ± 0,000	*	0,067 ± 0,046	Ab	0,150 ± 0,082	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
11	R2	96	0,100 ± 0,069	Acd	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,069	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
12	R3	105	0,250 ± 0,099	Abcd	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,150 ± 0,082	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
13	R3	111	0,200 ± 0,117	Abcd	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,069	Ac	0,133 ± 0,104	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
14	R4	119	0,050 ± 0,050	Ad	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,069	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
15	R5	125	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ac
16	R6	134	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*

Safra 3 (Verão 2018/2019)

Avaliação	Estádio Fenológico ¹	DAE	Milho não-Bt solteiro		Milho Bt solteiro		<i>U. ruziziensis</i> solteira		Milho não-Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho não-Bt		Milho Bt consorciado		<i>U. ruziziensis</i> consorciado com milho Bt	
			n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP		n° de lagartas ± EP	
1	V4	20	1,300 ± 0,219	Ab ²	0,100 ± 0,069	Ba	0,133 ± 0,063	Bab	0,700 ± 0,147	ABab	0,400 ± 0,113	Ba	0,300 ± 0,105	Ba	0,367 ± 0,367	Ba
2	V5	26	2,250 ± 0,416	Aa	0,150 ± 0,082	Ca	0,367 ± 0,089	Ca	0,800 ± 0,156	Ba	0,233 ± 0,092	Cab	0,400 ± 0,152	BCa	0,333 ± 0,333	Cab
3	V7	36	0,750 ± 0,216	Abc	0,050 ± 0,050	Ca	0,067 ± 0,046	Cb	0,400 ± 0,134	ABab	0,033 ± 0,033	Cb	0,200 ± 0,092	BCa	0,100 ± 0,100	Cbc
4	V9	42	0,450 ± 0,185	Ac	0,050 ± 0,050	Ba	0,000 ± 0,000	*	0,400 ± 0,112	Aab	0,033 ± 0,033	Bb	0,100 ± 0,069	ABa	0,033 ± 0,033	Babc
5	R1	54	0,450 ± 0,185	Ac	0,100 ± 0,069	Aa	0,000 ± 0,000	*	0,550 ± 0,153	Aab	0,100 ± 0,074	Ab	0,100 ± 0,069	Aa	0,033 ± 0,033	Ac
6	R1	57	0,550 ± 0,170	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,300 ± 0,105	ABbc	0,133 ± 0,079	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
7	R2	65	1,250 ± 0,315	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Bb	0,100 ± 0,069	Bc	0,100 ± 0,074	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,067 ± 0,067	Bc
8	R3	70	0,650 ± 0,196	Ac	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,100 ± 0,069	Bc	0,033 ± 0,033	Bb	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
9	R4	84	0,100 ± 0,069	Ad	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,150 ± 0,092	Ac	0,033 ± 0,033	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
10	R5	91	0,050 ± 0,050	Ad	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*
11	R5	99	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Ab	0,000 ± 0,000	*	0,067 ± 0,067	Ac
12	R5	105	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	Aabc
13	R6	113	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*	0,033 ± 0,033	b	0,000 ± 0,000	*	0,000 ± 0,000	*

¹Ritchie et al. (1993); ²Médias seguidas pela mesma letra minúscula (na mesma coluna) e letra maiúscula (na mesma linha) não diferem estatisticamente entre si pelos contrastes gerados pelo modelo. *Não considerado nos contrastes devido a falta de variabilidade; DAE: Dias após a emergência das plantas de milho; EP = Erro Padrão;