



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**RESPOSTA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO À APLICAÇÃO DO
FOSFITO EM MILHO DOCE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE
POPULAÇÕES DE LAGARTAS-DA-ESPIGA**

HEYDER MONTEIRO LOPES

**DISSERTAÇÃO
DE MESTRADO EM AGRONOMIA**

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**RESPOSTA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO À APLICAÇÃO DO
FOSFITO EM MILHO DOCE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE
POPULAÇÕES DE LAGARTAS-DA-ESPIGA**

HEYDER MONTEIRO LOPES

ORIENTADORA: CRISTINA SCHEPINO BASTOS
CO-ORIENTADOR: FÁBIO AKIYOSHI SUINAGA

DISSERTAÇÃO
DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**RESPOSTA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO À APLICAÇÃO DO
FOSFITO EM MILHO DOCE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE
POPULAÇÕES DE LAGARTAS-DA-ESPIGA**

HEYDER MONTEIRO LOPES

DISSERTAÇÃO DE Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Agronomia.

APROVADA POR:

CRISTINA SCHEPINO BASTOS, DSc. Fitotecnia – Entomologia/ Universidade de Brasília/ ORIENTADORA/ CPF: 007.369.317-08/ e-mail: cschetino@unb.br

CÍCERO CÉLIO DE FIGUEIREDO, DSc. Solo e Água/ Universidade de Brasília/ EXAMINADOR INTERNO/CPF: 029.754.447-02/ e-mail: cicerocf@unb.br

JORGE BRAZ TORRES, PhD. Entomologia/ Universidade Federal Rural de Pernambuco/ EXAMINADOR EXTERNO/ CPF: 016.928.407-70/ e-mail: jtorres@depa.ufrpe.br

BRASÍLIA/DF, 25 de fevereiro de 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA

LOPES, HeyderMonteiro

“RESPOSTA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO À APLICAÇÃO DO FOSFITO EM MILHO DOCE E DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE LAGARTAS-DA-ESPIGA”. Orientação: Cristina Schetino Bastos, Brasília 2016. 78 p.

Dissertação de mestrado – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. *Zea mays*, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa* spp. I. Bastos, C.S. II. Dr^a.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

LOPES, H.M. **Resposta da lagarta-do-cartucho à aplicação do fosfito em milho doce e divergência genética de populações de lagartas-da-espiga**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 78 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: HEYDER MONTEIRO LOPES

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Resposta da lagarta-do-cartucho à aplicação do fosfito em milho doce e divergência genética de populações de lagartas-da-espiga

GRAU: Mestre

ANO: 2016.

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

HEYDER MONTEIRO LOPES

CPF: 003.727.021-47

Rua 12 núm 17 quadra 110A, Formosinha / CEP: 73.813-450 Formosa-GO. Brasil

(38) 99971-4267/ email: heyderlopes@gmail.com

Dedico este trabalho a minha mãe Edilamar
Monteiro, por sua fé, coragem e bom ânimo neste
momento de adversidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por herdar Dele minha natureza divina e meu potencial infinito, pelo dom maravilhoso que Ele me deu, que é minha família.

Aos meus pais, na figura da minha mãe, Edilamar Monteiro, por toda a preocupação e serviço amoroso prestado e por seus sinceros incentivos e do meu pai Rubem Lopes da Silva, por me aconselhar e apoiar em minhas decisões.

Aos meus orientadores, Cristina Schetino Bastos e Fábio Akiohi Suinaga, não somente pelos conselhos no desenvolvimento e elaboração desta dissertação, mas principalmente pelos conselhos e exemplos para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A minha família, em especial ao meu irmão, Renner Monteiro Lopes, por seu grande coração e capacidade de auxiliar os outros e à família do meu irmão mais velho, Fabiano Renner Monteiro, pelo exemplo de determinação e trabalho. Agradeço ainda, aos meus sobrinhos, Bruna, Alex, Natan e Isaac, por trazerem tanta luz, esperança e alegria em minha vida.

Aos professores Cícero Célio de Figueiredo e Jorge Braz Torres pelas sugestões e contribuições.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos.

A equipe do Laboratório de Proteção de plantas - Andréa Aparecida Santos Oliveira, Antônio Macedo, Arthur Vieira Ribeiro, Carlos Eduardo Almeida Luz, José Rosil D. Baião Junior, Lara S. G. dos S. Neves, Wesley Brandão da Costa, Eliaci Amorim, Dheivid C. Pereira, Jaqueline Freire Maia, Tais Barbosa, Daniel Silva, Patricia Jesus dos Santos, Yann Krieger, Sanderson Melo Brito, Samuth Duarte Alves Pereira, João Gabriel Ribeiro e Donald Manigat - por toda a ajuda durante os ensaios e pela amizade construída nesses dois anos.

A equipe do Laboratório de Genômica da Embrapa Hortaliças/CNPH, aos analistas Chico e Getúlio, a auxiliar Néia e especialmente aos pesquisadores Leonardo Boiteux e Esther Boiteux, pela paciência ao me ensinar e acompanhar nas análises e extrações, e pelo fornecimento dos materiais para as análises de RAPD-PCR.

Ao Dr. Juscimar Silva, pelas análises foliares realizadas no Laboratório de Fertilidade/CNPH e ao Sr. Damião pelo auxílio durante a execução da metodologia de digestão.

Aos técnicos de campo do CNPH, por todo auxílio na condução dos experimentos, especialmente aos Srs. Edvaldo, Mario e João.

Aos funcionários da Fazenda Água Limpa, em especial ao Israel, Sr. Manoel e Evangelista pela disponibilidade em zelar pelas plantas durante a execução dos ensaios.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho, meu sincero muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

Figura 5-1. Porcentagem de mortalidade de lagartas de segundo. instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas à aplicação tópica de diferentes doses de fosfito de potássio., 53

Figura 6-1. Divergência genética entre populações de *Helicoverpa armigera* (Hübner) e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes locais e culturas cultivadas no Brasil, obtida a partir do índice de dissimilaridade de Jaccard. Valores de bootstrap (porcentagem para 400 reamostragens) são indicados em cada ramo., 69

Figura 6-2. Representação bidimensional da análise de coordenadas principais de 12 populações de *H. armigera* e *H. zea*, baseada na distância genética calculada com dados de marcadores RAPD. Números em parêntesis, localizados no eixo X e Y, indicam porcentagem da variância acumulada dos autovalores., 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 5-1. Largura da cápsula cefálica (mm) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (\pm EPM) em função das doses de fosfito de potássio aplicadas em plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae). Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015., 43

Tabela 5-2. Comprimento do corpo de lagartas *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (em mm) (\pm EPM), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015., 44

Tabela 5-3. Viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (em %) (\pm EPM), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015., 45

Tabela 5-4. Peso de lagartas (em g) e pupas e duração da fase larval (dias) (\pm EPM), de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) estimados aos 24 dias após a infestação (DAI) em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015., 46

Tabela 5-5. Viabilidade pupal (em %) e média de período pupal (em dias) (\pm EPM) de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura: 25 \pm 1 °C; UR: 40 \pm 15 %; Fotofase: 12 horas. Brasília, DF, 2015., 46

Tabela 5-6. Área (em cm²) e porcentagem de área foliar consumida (\pm EPM) em decorrência do ataque de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) às plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) tratadas com fosfito de potássio. Brasília, DF, 2015., 47

Tabela 5-7. Proporção de machos: fêmeas e razão sexual de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), em função das doses de fosfito de potássio aplicadas às plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae). Brasília, DF, 2015., 48

Tabela 5-8. Teores de macro e micronutrientes (\pm EPM) acumulados por folhas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) submetidas a pulverização com diferentes doses de fosfito de potássio em diferentes épocas de avaliação. Brasília, DF, 2014., 50

Tabela 6-1. Populações de *H. armigera* (HA) e *H. zea* (HZ), amostradas em diferentes datas de coleta, hospedeiros e localidades., 64

Tabela 6-2. Relação de iniciadores selecionados, com respectivos nomes comerciais, seqüência de bases nitrogenadas, número de fragmentos polimórficos (NFP), em 12 populações de *H. armigera* e *H. zea.*, 66

Tabela 6-3. Matriz de dissimilaridade genética entre populações de *H. armigera* e *H. zea*, construída a partir do complemento aritmético do índice de Jaccard., 68

Tabela 6-4. Distância média intra e intergrupos de 12 populações de *H. armigera* e *H. zea* pelo método de otimização de Tocher, baseada no coeficiente de dissimilaridade de Jaccard, utilizando 138 bandas polimórficas., 70

RESUMO GERAL

O milho é hospedeiro de um grande número de artrópodes-praga, a exemplo da lagarta-do-cartucho do milho e das lagartas das espigas. No caso do milho doce, alternativas para manejo desses grupos de pragas não estão disponíveis ou são escassas. Em relação às lagartas das espigas, a entrada recente da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil adicionou ainda mais complexidade ao manejo desse grupo de pragas. Desta forma, este trabalho avaliou a influência da aplicação de fosfito de potássio, em plantas de milho doce, bem como a influência da aplicação tópica sobre a lagarta-do-cartucho do milho, e determinou a diversidade genética de populações de *Helicoverpa* spp. de origens distintas. Ensaios foram realizados com a utilização de soluções a base de fosfito de potássio 00-40-20, nas concentrações de 2, 4 e 6 L por hectare, além da testemunha (água). Plantas da variedade Doce Cristal foram infestadas com lagartas neonatas sendo avaliado, em ensaios distintos, a sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* pela aplicação tópica, seu desenvolvimento (comprimento corporal, largura da cápsula cefálica e peso corporal), número e peso das pupas obtidas, viabilidade da fase larval e pupal, razão e proporção sexual e os teores foliares de macro e micro nutrientes acumulados pelas plantas. No caso dos estudos de divergência genética, 12 populações de lagartas de *H. armigera* e *Helicoverpa zea* provenientes das regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste do Brasil tiveram seus DNAs extraídos seguida da busca por diferenças genéticas entre as populações utilizando-se uma coleção de 100 pares de oligonucleotídeos iniciadores decâmeros (primers) de sequência arbitrária do RAPD-PCR. A pulverização de fosfito de potássio alterou a razão sexual de *S. frugiperda* com menor produção de machos, sendo esse efeito mais marcante nas doses de 2 e 6 L por hectare. A aplicação tópica de doses crescentes de fosfito de potássio aumentou a mortalidade de lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*. O uso de fosfito de potássio alterou os teores foliares de fósforo, enxofre, cálcio e boro. Os resultados das análises de agrupamento utilizadas foram concordantes em formar três grupos populacionais de *Helicoverpa* spp.: um grupo contendo seis populações de *H. zea* e uma de *H. armigera*, outro formado por duas populações de *H. armigera* e um terceiro composto por duas populações de *H. armigera* e uma de *H. zea*. Foi observado baixa diversidade genética entre as populações de *H. zea*, sendo oposto ao que foi verificado entre as populações de *H. armigera*.

Palavras-chave: *Zea mays*, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa* spp.

ABSTRACT

Corn is infested by a great number of arthropod-pests, including the fall armyworm and the corn earworms. Concerning sweet corn, many existing alternatives to manage these pests in common corn are still not available. Also, in face of the recent detection of *H. armigera* in Brazil, managing this group of pests became even harder. Hence, the objective of this study was to evaluate the influence of the application of potassium phosphite on sweet corn plants, as well as the influence of topical application over fall armyworm, and to assess the genetic diversity of *Helicoverpa* spp. populations collected in different regions. Bioassays were run with solutions of potassium phosphite 00-40-20, at the following concentrations: 0, 2, 4 and 6 L/ha. Sweet corn variety Doce Cristal was infested with caterpillars reared on artificial diet being evaluated, in different bioassays, the larval survival of *Spodoptera frugiperda* after the topical application, the development (width of head capsule, body size and weight), number and weight of the pupae obtained, larval and pupal viability, sexual ratio and the quantification of the foliar macro and micronutrients content in sweet corn plants. In the case of genetic divergence, twelve populations of *H. armigera* and *Helicoverpa zea* from Central part, South and Southeast of Brazil had their DNA extracted followed by the search of genetic differences among them by using a collection of 100 pairs of primers of RAPD-PCR. The pulverization of potassium phosphite changed the sexual ration of *S. frugiperda* resulting in less males, being this effect more remarkable on the treatments of 2 and 6 L per hectare. The topical application of increasing doses of potassium phosphite enhanced the mortality of second instar caterpillars of *S. frugiperda*. The use of potassium phosphite changed the foliar content of phosphorus, sulfur, calcium and boron. The results from all employed cluster analysis were similar, providing three major groups of *Helicoverpa* spp.: the first composed by six populations of *H. zea* and one of *H. armigera*; the second formed by two populations of *H. armigera* and the third with two *H. armigera* and one *H. zea* populations. It was detected low genetic diversity among *H. zea* populations, the opposite being noticed among *H. armigera* populations.

Key-Words: *Zea mays*, *Spodoptera frugiperda*, *Helicoverpa* spp.

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GERAL	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Manejo integrado de pragas: a abordagem que agrega e incorpora diferentes métodos de controle.....	4
3.2. O milho doce	5
3.3. Artropodofauna do milho doce.....	7
3.4. A lagarta-do-cartucho do milho	8
3.5. Fosfito de potássio e o ataque de pragas	10
3.6. As lagartas das espigas	13
3.7. Divergência genética de <i>Helicoverpa</i> spp. (Lepidoptera: Noctuidae)	17
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
5. FOSFITO DE POTÁSSIO AFETANDO O DESEMPENHO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO E O ACÚMULO DE NUTRIENTES PELO MILHO-DOCE.....	36
5.1. RESUMO	36
5.2. INTRODUÇÃO	37
5.3. MATERIAL E MÉTODOS	39
5.3.1. Condições gerais de experimentação	39
5.3.2. Biologia do inseto.....	39
5.3.3. Efeitos da aplicação tópica de fosfito de potássio sobre a mortalidade da lagarta-do-cartucho do milho.....	41
5.4.1. Biologia do inseto	42
5.4.2. Aplicação tópica de fosfito de potássio.....	52
5.5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
5.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
6. DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE LAGARTAS DA ESPIGA.....	61
6.1. RESUMO.....	61
6.2. INTRODUÇÃO	62
6.3. MATERIAL E MÉTODOS	63
5.6.1. Populações	63
5.6.2. Extração de DNA	64

5.6.3. Marcadores do tipo RAPD-PCR	65
5.6.4. Análise da divergência genética.....	66
6.4. RESULTADOS.....	67
6.5. DISCUSSÃO.....	71
6.6. CONCLUSÕES.....	73
6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

1. INTRODUÇÃO GERAL

O milho doce (*Zea mays* L. grupo *saccharata*) pertencente à família Poaceae ou Graminae, tribo Maydeae é bem próximo do milho convencional. A maior parte do milho doce cultivado destina-se à comercialização processada, podendo ainda ser destinado ao consumo *in natura* como milho verde. Os remanescentes da cultura, após a colheita, podem ser usados na produção de etanol ou na alimentação animal (TEIXEIRA et al., 2001; OKUMURA et al., 2013).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China (USDA, 2016). No Brasil, a região Centro-Oeste é a maior produtora, com o estado do Mato Grosso respondendo pelo maior montante produzido e o Distrito Federal pela maior produtividade (BRASIL, 2015). Vale destacar ainda que a maior produção de milho doce é proveniente de Goiás (MAGGIO, 2006).

Parte dos fatores que desviam a produção obtida da esperada são as perdas provenientes do ataque de artrópodes-praga. Deste modo, a utilização de técnicas mais eficientes de controle, que minimizem a utilização de produtos ofensivos ao meio ambiente e sejam sustentáveis do ponto de vista econômico são critérios imprescindíveis na atual agricultura (TILMAN et al., 2002). Neste contexto, o manejo integrado de pragas (MIP) que consiste em uma filosofia de controle destinada a manter as populações de pragas abaixo do nível de dano econômico, empregando, para este fim, múltiplas táticas que sejam compatíveis entre si e que contribuam para a conservação da qualidade ambiental constitui-se em uma abordagem compatível com essa necessidade (KOGAN, 1998). De acordo com esse conceito do MIP, o agroecossistema deve ser enxergado e manejado, tanto quanto seja possível, de maneira plena e não como o resultado de partes ou sub-sistemas fracionados.

Desta forma, no agroecossistema do milho doce, especial atenção deve ser dada as lagartas desfolhadoras e das espigas, tendo em vista que a cultura tende a ser mais atacada devido à pequena disponibilidade de cultivares no mercado e à composição diferenciada dos seus grãos, tornando-os mais suscetíveis (TRACY, 2001; SHARMA & BAJRACHARYA, 2006; KARIC & FESTIC, 2010; SHELTON et al., 2013).

No caso das lagartas desfolhadoras, especial destaque deve ser dado à lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). As lagartas dessa espécie podem atacar o milho desde a fase de plântula até a fase reprodutiva, alimentando-se, inicialmente do limbo das folhas do cartucho, podendo atacar ainda as espigas, em ocorrência tardia

(CRUZ,1995; VALICENTE et al., 2004). Normalmente, o controle dessa praga é feito através da pulverização de inseticidas (STORCH et al., 2008) ou do cultivo de plantas geneticamente modificadas incorporando as toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (FERNANDES et al., 2003). Todavia, não existe no Brasil, materiais de milho doce que incorporem as toxinas Bt. Desta forma, alternativas de manejo devem ser buscadas, a exemplo de produtos que, mesmo que não causem intoxicação aguda nos insetos, possam desencadear respostas deletérias na sua biologia.

Nesse aspecto, os sais do ácido fosforoso (H_3PO_3) conhecidos como fosfito (THAO & YAMAKAWA, 2009) são efetivos na supressão de diversas doenças causadas por fungos (SALA et al., 2004; LOVATT & MIKKELSEN, 2006; COOK et al., 2009) bem como possuem ação deletéria sobre diversos artrópodes, incluindo alguns mastigadores e sugadores (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014; VENTER et al., 2014). Todavia, não existem relatos de trabalhos que já tenham avaliado a ação do fosfito sobre artrópodes-praga do milho.

Outro grupo de pragas de considerável relevância para o milho e, em especial para o milho doce, são as lagartas-da-espiga pertencentes ao gênero *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). Essas pragas concentram o seu ataque nas espigas, apesar de também poderem atacar outras partes da planta. A alimentação causa deformações ou podridões nas estruturas atacadas e pode levar a queda das mesmas (CUNNINGHAM et al., 1999; POGUE, 2004; TAY et al., 2013).

No Brasil, até o ano de 2013, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) era considerada uma praga quarentenária A1, sendo que os primeiros relatos desta praga no país foram realizados por Czepak et al. (2013), Specht et al. (2013) e Tay et al. (2013). Este fato pode ser considerado crítico para o agronegócio do Brasil devido às várias características do inseto que tornam seu manejo dificultado e podem alterar sua estrutura populacional bem como o fluxo gênico entre populações (ZALUCKI et al., 2012; BEHERE et al., 2013).

Inferências sobre a estrutura genética e o fluxo gênico entre populações e subpopulações brasileiras de *Helicoverpa* podem ser extraídas através do uso de marcadores moleculares (MASTRANGELO et al, 2014). Isto porque a compreensão da variabilidade genética entre populações de *H. armigera* e dessas populações em relação à *H. zea* torna-se essencial para antever seu comportamento frente as diferentes estratégias e táticas do MIP, auxiliando na previsão das respostas aos principais métodos de controle empregados para o manejo desse grupo de pragas (TAY et al., 2013; YENAGI et al., 2012; KHIABAN et al., 2010)

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- a) Avaliar a influência da aplicação de fosfito de potássio, em milho doce, sobre a lagarta-do-cartucho do milho e o acúmulo de nutrientes pelas plantas e determinar a diversidade genética de populações de *Helicoverpa* spp. de origem distintas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar o efeito da aplicação de fosfito de potássio na biologia de *S. frugiperda*;
- b) Determinar o efeito da aplicação de fosfito de potássio na composição nutricional das plantas de milho doce;
- c) Determinar se existe fluxo gênico entre populações de *Helicoverpa* spp.;
- d) Avaliar a divergência genética das populações de *Helicoverpa* spp.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Manejo integrado de pragas: a abordagem que agrega e incorpora diferentes métodos de controle

O manejo integrado de pragas (MIP), teve variadas procedências, bem como definições (LEWIS et al., 1997). Durante o final do século XIX e início do século XX, na falta de pesticidas eficientes, especialistas em proteção de plantas basearam-se no conhecimento da biologia das pragas aliado às práticas culturais para o desenvolvimento de múltiplas estratégias de controle que, de alguma forma, foram precursoras dos modernos sistemas de MIP (KOGAN, 1998).

A procura por uma definição perfeita para o MIP tem durado desde que foram estabelecidos conceitos mais simples e menos amplos, como o controle integrado (STERN et al., 1959). O consenso na definição é desejável para ajudar na escolha de critérios de desempenho para as metas de implementação do MIP em programas no geral. Assim, Kogan (1998) ofereceu uma síntese do que parece ser atualmente aceito: o MIP é um sistema de suporte de decisão para a seleção e uso de táticas de controle de pragas, isoladamente ou harmoniosamente coordenadas em uma estratégia de manejo, fundamentadas em análises de custo/benefício que levam em conta os interesses e impactos sobre produtores, sociedade e ambiente.

Desta forma, a combinação de técnicas e recursos disponíveis utilizados no MIP, pressupõe o emprego de diferentes métodos de controle, a exemplo do controle biológico (SOARES et al., 2014), controle químico (DEGRANDE et al., 2012), controle comportamental (LIMA-MENDONÇA et al., 2014), resistência de plantas (RODRIGUES et al., 2012), medidas legislativas (MATO GROSSO, 2002), e controle cultural (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014), para manter as populações abaixo dos limiares de dano econômico.

Vale destacar que um programa de manejo de pragas é dinâmico por definição, incorporando a todo instante os últimos avanços obtidos pela pesquisa e traduzindo-os em tecnologias acessíveis ao agricultor (KOGAN, 1998). Nesse aspecto, as novas abordagens devem ser avaliadas caso a caso e incorporadas no manejo da praga na medida em que se mostrem eficientes em reduzir o seu impacto sobre os cultivos.

Desta forma, estudos que avaliem o uso de fertilizantes específicos ou de novas formulações de fertilizantes que, em casos especiais, desempenham papel deletério sobre artrópodes pragas e

doenças (LOVATT & MIKKELSEN, 2006; ARAÚJO et al., 2008), se encaixam perfeitamente nessa abordagem (KOGAN, 1998). Adicionalmente, o conhecimento da variabilidade genética de populações de diferentes procedências pode permitir antever o seu comportamento frente aos métodos de controle em uso (LEITE et al., 2014) no agroecossistema em questão.

3.2. O milho doce

O milho (*Zea mays* L.), já utilizado pela maioria dos povos primitivos americanos, pertence ao gênero *Zea*, tribo Maydea e família Poaceae. A cultura é originária da América Central e foi domesticada no período compreendido entre 5.000-8.000 a.C., figurando hoje entre as espécies de grande relevância social e econômica (ARAGÃO, 2002).

O milho doce (*Zea mays* L. grupo *saccharata*) se destaca, entre os aproximadamente 250 cruzamentos catalogados da espécie *Z. mays*, como uma hortaliça destinada, primordialmente, ao consumo humano (TRACY, 2001). Sua comercialização pode ser feita de diferentes formas: enlatado, desidratado, *in natura*, congelado na forma de espigas ou grãos ou como minimilho, se colhido antes da polinização (PEREIRA FILHO et al., 2003; ZÁRATE et al., 2009; LUZ et al., 2014). Além disso, após a colheita, as partes vegetais remanescentes da planta podem ser aproveitadas como silagem, na alimentação animal (TEIXEIRA et al., 2001) ou na fabricação de etanol (GAO & ZHANG, 2014).

A cultura ocupa lugar de destaque como uma das hortaliças mais consumidas nos Estados Unidos e Canadá, possuindo consumo crescente na Ásia e em vários países da Europa. Entretanto, no Brasil, ainda não existe o hábito de consumir o milho doce *in natura* (PEREIRA FILHO et al., 2003).

A produção mundial de milho doce foi estimada em 9,18 milhões de toneladas, em uma área de 1,04 milhões de hectares, sendo os Estados Unidos o principal produtor (SOUZA et al., 2013). Apesar do Brasil ainda ocupar lugar de pouco destaque na produção mundial de milho doce, o aumento da demanda e da importância desta hortaliça, tanto no mercado nacional quanto para exportação, tem gerado crescimento das áreas de cultivo deste e o Brasil, como grande produtor de milho, possui também um grande potencial para a produção dessa espécie (BORDALLO et al., 2005; KWIATKOWSKI & CLEMENTE, 2007). Dos 36 mil hectares cultivados no Brasil, 90%

são provenientes do estado de Goiás, sendo praticamente a totalidade da produção destinada ao processamento industrial (BARBIERI et al., 2005).

Dessa forma, a exploração do milho doce pode se constituir em alternativa econômica, pois suas características atribuem cotações diferenciadas, tanto para os hortigranjeiros localizados próximos aos cinturões verdes das grandes metrópoles, quanto para os agricultores familiares que produzem milho para o consumo *in natura* ou para aqueles que produzem em locais mais afastados o milho destinado ao processamento industrial (ZÁRATE et al., 2009).

O sabor adocicado desse tipo especial de milho é proveniente de mutações que estão ligadas, na maioria das vezes, a diversos alelos recessivos, sendo os principais: *shrunken-2 (sh2)* localizado no cromossomo 3, *brittle (bt)* no cromossomo 5, *sugaryenhancer(se)*, *sugary (su)* e *brittle-2 (bt2)*, no cromossomo 4. Existe ainda o *dull (du)* no cromossomo 10, *waxy (wx)* no cromossomo 9, e *amilo extender (ae)*, no cromossomo 5 que, isoladamente ou em conjunto duplos ou triplos, são envolvidos na rota de biossíntese de carboidratos no endosperma dos grãos impedindo a conversão de parte do açúcar em amido (TRACY, 2001). Enquanto os genes do grupo super doce causam um severo bloqueio na síntese do amido, o que resulta no acúmulo de altos conteúdos de açúcar no endosperma, os genótipos do grupo doce alteram o tipo e a quantidade dos polissacarídeos do endosperma e apresentam uma menor quantidade de amido quando comparados ao milho comum (ARAGÃO, 2002). Desta forma, nas cultivares de milho comum o teor de açúcar fica em torno de 3% e o teor de amido varia entre 60 a 70%. O milho doce, por sua vez, tem de 9 a 14% de açúcar e 30 a 35% de amido nos grãos e as variedades superdoce têm em torno de 25% de açúcar e 15 a 25% de amido (PEREIRA FILHO et al., 2003). Essas diferenças na composição dos grãos ocorre na fase de grão leitoso, quando os grãos do milho doce tornam-se mais macios e com maiores teores de açúcar, em relação ao milho verde comum (TRACY, 2001).

A despeito dos muito pontos promissores em relação ao cultivo do milho doce, a cultura geralmente apresenta baixa produtividade, problemas na produção entre-safra, baixa resistência a pragas e doenças e pequena disponibilidade de cultivares (TRACY, 2001; SHELTON et al., 2013). Adicionalmente, o teor diferenciado de açúcares simples em detrimento dos carboidratos complexos e a maior maciez dos grãos são fatores predisponentes ao ataque de pragas (PARRA, 1991; SHARMA & BAJRACHARYA, 2006; KARIC & FESTIC, 2010), tornando seu manejo mais complexo.

3.3. Artropodofauna do milho doce

Os artrópodes associados ao milho doce são bastante semelhantes àqueles que infestam o milho comum (PARENTONI et al., 1990). A principal diferença está relacionada à magnitude do ataque dos artrópodes-praga e às ferramentas disponíveis para o seu manejo. Tal situação é atribuída ao fato do milho doce possuir pelo menos um dos oito genes mutantes que afetam a biossíntese de carboidratos no endosperma, resultando em maior acúmulo de açúcares em detrimento de amido, quando comparado ao milho convencional (PARENTONI et al, 1990; TRACY, 2001). Segundo Parra (1991) alimentos ricos em carboidratos mais simples (pentoses, hexoses, di e trissacarídeos) são utilizados mais frequentemente e por uma maior diversidade de fitófagos em comparação aos alimentos ricos em carboidratos complexos (polissacarídeos como o amido). Logo, essa condição incrementa o ataque de artrópodes-praga, dificultando, ainda mais, o seu manejo. Adicionalmente, tendo em vista que um dos usos propostos para o milho doce é o consumo *in natura*, o maior ataque pode resultar na rejeição do produto final pelo consumidor, já que Kwiatkowski & Clemente (2007) afirmam que mesmo quando destinados à industrialização, após a colheita, o milho doce passa por um processo de seleção, em que são descartadas as espigas que apresentam danos externos aparentes (brocas, machucaduras, podridões).

Por outro lado, medidas de manejo que são efetivas contra um importante grupo de pragas dessa cultura, as lagartas desfolhadoras e as lagartas das espigas, possuem aplicabilidade restrita no cultivo do milho doce. Dentre essas, cita-se o milho geneticamente modificado (GM) incorporando as toxinas da bactéria *B. thuringiensis*, efetivas contra a maioria dos Lepidoptera-praga que atacam o milho (FERNANDES et al., 2003). Atualmente, não existem relatos de materiais brasileiros de milho doce incorporando essas toxinas em função, principalmente, das preocupações dos consumidores em relação à ingestão dessas toxinas e possibilidade de ocorrência de polinização cruzada entre plantas GM e não GM, no que pese essa tecnologia já estar disponível fora do Brasil (MONSANTO, 2015). Logo, essa medida de controle termina sendo de pequena aplicabilidade para a cultura.

As principais pragas da espiga do milho doce são *Helicoverpa* (= *Heliothis*) spp. (Lepidoptera: Noctuidae) e *Euxesta* sp. (Diptera: Otitidae). Esses insetos concentram seu ataque na espiga, alimentando-se dos grãos em formação que são mais atrativos e suscetíveis ao ataque, reduzindo o valor comercial do produto colhido (CRUZ, 2008).

Existem ainda desfolhadores e sugadores que causam problemas à cultura. No caso dos desfolhadores, dependendo da magnitude da injúria, a diminuição do índice de área foliar pode levar à queda na produção. Os desfolhadores mais comuns são as vaquinhas e a lagarta do cartucho (*S. frugiperda*), destacando-se que as vaquinhas podem atacar ainda o sistema radicular das plantas. No caso dos sugadores (pulgões e cigarrinhas), além de diminuírem a translocação de seiva e nutrientes, podem transmitir viroses às plantas (PARENTONI, 1990; ALMEIDA et al., 2001). Como esse tipo de milho ainda é pouco explorado comercialmente, a disponibilidade de cultivares incorporando resistência às doenças ainda é escassa (REIS, 2009).

A presença de um grande número de pragas e a disponibilidade de pólen pelas plantas do milho proporciona um ambiente adequado à presença de diversos parasitoides e predadores, que ajudam a controlar e a diminuir os danos causados pelas pragas (CIVIDANES & BARBOSA, 2001; CRUZ, 2004). Os parasitoides mais comuns encontrados no milho podem ser divididos em parasitoides de ovos que são as vespinhas *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae), parasitoides de ovo-larva cujos representantes são *Chelonus insularis* Cresson pertencente à família Braconidae, parasitoides de lagartas que são vespas membros das famílias Ichneumonidae e Braconidae e parasitoides de pulgões também pertencentes à família Braconidae. Os predadores mais comuns são as joaninhas, crisopídeos, tesourinhas, sirfídeos e percevejos predadores (CRUZ, 2008).

3.4. A lagarta-do-cartucho do milho

O gênero *Spodoptera* é composto por várias espécies dentre as quais cerca de 15 são consideradas pragas, incluindo *S. frugiperda*, *S. eridania* (Cramer) e *S. exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (POGUE, 2002). A lagarta-do-cartucho do milho, *S. frugiperda*, é considerada uma espécie polífaga, atacando diversas culturas economicamente importantes em vários países, além de se alimentar de hospedeiros alternativos (BARROS et al., 2010), tais como o algodão, o amendoim, a abóbora, a batata, a couve, o feijão, o sorgo, o trigo e o tomate (POGUE, 2002; CRUZ & MONTEIRO, 2004; NAGOSHI et al., 2007). Apesar da amplitude hospedeira, *S. frugiperda* é considerada praga importante de plantas da família Poaceae (gramíneas)

(CAPINERA, 2008). Na sua fase larval, o inseto é considerado a principal praga do milho no Brasil e nas Américas (PRAÇA et al., 2006; SILVA & PARRA, 2013).

Desde sua descoberta, há mais de 200 anos, vários surtos populacionais desta praga têm sido relatados (SPARKS, 1979; CRUZ, 1995). No Brasil, um dos fatores que pode estar contribuindo para a dificuldade no manejo de *S. frugiperda* é a grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, seja devido à sucessão de culturas e de cultivos safra e safrinha (FIGUEREDO et al., 2006), seja por causa da proximidade estabelecida entre cultivos comerciais potencialmente hospedeiros (BARROS et al., 2010) ou de hospedeiros que germinam espontaneamente, tais como *Digitaria horizontalis* Willd. e *Brachiaria plantaginea* (Link) (Hitchc) (Poaceae) (SANTIAGO et al., 2008).

A duração da fase larval de *S. frugiperda* é de 10 a 30 dias (SPARKS, 1979; CRUZ, 1995; GIOLLO et al., 2002; ROSA et al., 2012) valor similar ao relatado para o milho doce (SANTOS et al., 2003). O comprimento do corpo de uma lagartas de quinto ínstar pode chegar a 50 mm e a largura da cápsula cefálica pode variar de 2,70 a 2,78 mm.

Concluído o período larval, e dependendo da textura do solo, umidade e temperatura, as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas, e permanecem neste estado por um período de 7 a 37 dias (CRUZ, 1995). Períodos mais longos ocorrem em temperaturas mais baixas. Existe relatos de fase pupal com duração média de 11 dias em genótipos de milho doce (SANTOS et al., 2004) e de 9 dias para lagartas coletadas em arroz (GIOLLO et al., 2002).

Após o período pupal ocorre a emergência dos adultos. As mariposas medem aproximadamente 15 mm de comprimento e de 35 a 40 mm de envergadura, possuem coloração pardo-escura nas asas anteriores e branco acinzentado nas posteriores, podendo apresentar longevidade em torno de 14 dias, com período de oviposição de 7 dias (SPARKS, 1979; CRUZ, 1995). No milho, este inseto faz postura agregada e recoberta por uma densa camada de escamas, geralmente na face adaxial das folhas onde podem ser encontrados de poucos a centenas de ovos (CRUZ, 1995; ROSA et al., 2012).

Na cultura do milho, os ataques podem ocorrer desde a fase de plântula até a fase reprodutiva. As lagartas, no início do seu desenvolvimento, raspam o limbo foliar das folhas jovens, deixando apenas a epiderme membranosa, passando depois a atacar as folhas do cartucho, as quais podem ser totalmente destruídas. O consumo proporcional das lagartas, do primeiro ao quinto instar, é respectivamente de 0,1%, 0,6%, 1,1%, 4,7%, 16,3% e 77,2% (SPARKS, 1979). Nas ocorrências tardias, as lagartas atacam as espigas, destruindo o colmo e os grãos, favorecendo a ocorrência de

patógenos que causam podridões (CRUZ, 1995; VALICENTE et al., 2004). Considerando que um dos usos propostos para o milho doce é o consumo *in natura*, a maior suscetibilidade da cultura, que resulta no incremento do ataque, pode condicionar a rejeição do produto final pelo consumidor. Kwiatkowski & Clemente (2007) afirmam que mesmo quando destinado à industrialização, após a colheita, o milho doce passa por um processo de seleção, ocasião na qual são descartadas as espigas que apresentam danos externos aparentes (brocas, machucaduras, podridões).

Devido ao hábito da praga, que é capaz de atacar todos os estágios de desenvolvimento do milho, a redução no rendimento de grãos pode variar de 17,7 a 55,6% (SARMENTO et al., 2003; CRUZ, 2008). Estima-se que as perdas ocasionadas à cultura do milho pela lagarta do cartucho sejam responsáveis por mais de 25% dos prejuízos decorrentes do cultivo e pela maior parte dos 38,3 milhões de dólares gastos com pulverizações de inseticidas, resultando em um prejuízo anual de aproximadamente 250 milhões de dólares (WAQUIL & VILELLA, 2003).

Os prejuízos da lagarta do cartucho à cultura do milho não estão relacionados com a ausência de tratamento fitossanitário, pois o número de aplicações de inseticidas têm aumentado ao longo dos anos. No entanto, há uma preocupação crescente com o aumento da ocorrência de populações resistentes aos inseticidas (CARVALHO et al., 2013), bem como com a diminuição da diversidade dos inimigos naturais em consequência do uso indiscriminado de inseticidas (CLOYD & BETHKE, 2011).

Visto que o desenvolvimento de novas moléculas inseticidas é um processo lento e oneroso (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014) e que produtos consumidos *in natura* necessitam de maior atenção quanto a qualidade visual e ao uso de agrotóxicos (JARDIM & CALDAS, 2012, RIGOTTO et al., 2014), novas medidas de controle devem ser buscadas e podem desempenhar papel fundamental no manejo integrado de pragas (ANDERSON et al., 2006).

3.5. Fosfito de potássio e o ataque de pragas

Os fosfitos, compostos oriundos do ácido fosforoso, contêm maiores concentrações de P (39%) do que os fertilizantes tradicionais compostos por fosfato. Os sais de fosfitos são geralmente mais solúveis do que os sais de fosfato e são produzidos pela neutralização do ácido fosforoso por

uma base (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio ou hidróxido de amônio) (COHEN & COFFEY, 1986), podendo combinar com elementos como potássio, cálcio, magnésio, alumínio, manganês e zinco.

Estes compostos, provenientes do ácido fosforoso, se usados em concentrações adequadas não são fitotóxicos e podem apresentar alta atividade fungicida na planta (COHEN & COFFEY, 1986).

Atualmente, várias formulações de fosfitos contendo macro e micronutrientes (K, Zn, Mn, Ca e B) estão sendo comercializadas no Brasil para uso em diversas culturas (SILVA et al., 2013; ARAÚJO et al., 2008; THAO & YAMAKAWA, 2009).

Os fosfitos são rapidamente absorvidos pelas folhas passando a ser translocados sistemicamente via floema e xilema, embora não apresentem uma forma metabolizável de fósforo que permita acúmulo na planta por mais de 150 dias (ARAÚJO et al., 2010).

O fosfito, que é o ingrediente ativo do Phytogard[®] Potássio (Stoller do Brasil LTDA, Campinas-SP), tem sido amplamente comercializado como fungicida, bioestimulador e como fonte de P para as plantas (LOVATT & MIKKELSEN, 2006; ARAÚJO et al., 2008; THAO & YAMAKAWA, 2009; PATTERSON & ALYOKHIN, 2014). Seu uso como fonte nutricional é controverso, já que não existem evidências de que o fosfito possa ser utilizado como fonte de P pelas plantas (FÖRSTER et al., 1998; VARADARAJAN et al., 2002). Entretanto, há evidências de que esses compostos podem desencadear a indução de resistência em plantas ao ataque de pragas (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014; VENTER et al., 2014). Apesar deste fato, o uso de fertilizantes à base de fosfito como fonte de fósforo e visando aumento na produtividade das culturas tem aumentado significativamente em atividades agrícolas no Brasil, (WORDELL FILHO & STADNIK, 2004; BLUM et al., 2007).

No que tange seu papel no controle de pragas, Lovatt & Mikkelsen (2006), Cook et al. (2009) e Sala et al., (2004) verificaram que o fosfito mostrou-se eficiente no controle de doenças de plantas, principalmente daquelas causadas por organismos do filo *Oomycota*, conhecidos por oomicetos e incluindo *Phytophthora* sp., *Bremia* sp. e *Pythium* sp. O modo de ação atribuído ao produto, inclui toxicidade direta ao patógeno bem como inibição indireta do seu crescimento mediante a estimulação das respostas do sistema de defesa do hospedeiro (DANIEL & GUEST, 2006). Acredita-se que tais produtos possam tanto atuar diretamente sobre os fungos pelo bloqueio da síntese de ATP e, indiretamente, pela indução de resistência (STADNIK & TALAMINI, 2004).

Entre os fosfitos, o de potássio destaca-se por afetar mais o crescimento micelial de diferentes espécies de *Phytophthora* e apresentar maior solubilidade, quando comparado a outros produtos do grupo (OUIMETTE & COFFEY, 1989). O modo de ação direto e indireto dos fosfitos sobre *Phytophthora cinnamomi* foi relatado por Jackson et al. (2000), onde esses, em altas concentrações, atuaram como inibidores diretos do patógeno e em baixas concentrações foram capazes de estimular a produção de enzimas de defesa do hospedeiro, podendo ainda atuar sobre várias fases do ciclo de vida dos patógenos (WILKINSON et al., 2001). Segundo Coffey & Bower (1984) e Wilkinson et al. (2001), as espécies de *Phytophthora* apresentam grande variabilidade quanto à sensibilidade a estes produtos.

Em complemento à sua função fungicida, o fosfito tem demonstrado atividade deletéria para alguns artrópodes. Alguns trabalhos detectaram ação do produto sobre sugadores tais como os tripses [*Frankliniella* spp. Thysanoptera: Thripidae], pulgão do algodoeiro [*Aphis gossypii* Glover, Hemiptera: Aphididae], mosca branca [*Bemisia tabaci* (Gennadius) Hemiptera: Aleyrodidae], pulgão do trigo [*Diuraphis noxia* (Kurdjumov) Homoptera: Aphididae] e desfolhadores tais como *Bucculatrix thurberiella* Busck (Lepidoptera: Bucculatricidae) (COLLINS, 1993; VENTER et al., 2014) e *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014).

Ainda, que pouca atenção tenha sido dada a atividade inseticida do fosfito (FORBES & ROSENHEIM, 2011; VENTER et al., 2014), sua dupla ação fungicida e inseticida, bem como sua baixa toxicidade para vertebrados o tornam uma medida de manejo ideal para incorporação ao manejo integrado de pragas (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014).

3.6. As lagartas das espigas

A ocorrência impactante de lagartas tem aumentado nas diferentes regiões do Brasil, especialmente nas culturas de milho, soja, feijão e algodão. Mesmo diante das particularidades de cada região, o relato mais frequente tem sido de ataques de lagartas do gênero *Helicoverpa* às estruturas reprodutivas das plantas (SPECHT et al., 2013).

De acordo com relato de Specht et al. (2013) a característica morfológica mais importante usada na distinção entre as espécies *H. armigera* e *H. zea* é aquela associada à genitália dos machos (formato da base do oitavo urosternito e presença ou ausência de um lobo simples na base da vesica). Todavia, a amplitude de hospedeiros, além da magnitude e da natureza do ataque dessas espécies são consideravelmente distintas (CAMERON et al., 2001; FAURE et al., 2004; MELLET et al., 2004; POGUE, 2004; SINGH et al., 2004; SPECHT et al., 2013; MURUA et al., 2014; CABI, 2015), com consequentes desdobramentos sobre o manejo dessas pragas.

A espécie *H. zea* apesar de poder atacar culturas como o milho, o tomateiro, o algodoeiro, o sorgo, a cebola, o alho, o feijoeiro, o quiabeiro, a soja, o girassol e algumas cucurbitáceas e solanáneas, no Brasil é praga importante no milho, principalmente no milho doce e no tomateiro, adquirindo menor importância nos demais cultivos (ZUCCHI et al., 1993; CABI, 2015). A praga encontra-se amplamente distribuída pelo continente americano (América do Norte, Central e do Sul, Caribe e Havaí) (GILLIGAN & PASSOA, 2014), ocorrendo ainda no continente asiático e tendo sido interceptada no continente europeu (CABI, 2015).

Já a espécie *H. armigera* é considerada como umas das principais pragas das culturas agrícolas do mundo, possuindo uma das mais amplas distribuições geográficas e estando presente na Europa (FAURE et al., 2004), Ásia (SINGH et al., 2004), África (MELLET et al., 2004) e Oceania (CAMERON et al., 2001). Recentemente, essa espécie também foi encontrada na América do Sul, no Paraguai e na Argentina (MURUA et al., 2014; CABI, 2015).

Até o ano de 2013, *H. armigera* integrava a lista de pragas quarentenárias para o Brasil, de acordo com a Instrução Normativa no. 38, de 14 de outubro de 1999 (BRASIL, 1999). Nas safras de 2011/2012 e 2012/2013, altas infestações de espécies do gênero *Helicoverpa* foram detectadas em diferentes regiões do Brasil, atacando cultivos principais e culturas de cobertura, resultando em perdas significativas. Inicialmente presumiu-se tratar de ataque de *H. zea*, que é frequentemente encontrada na cultura do milho e do tomate no Brasil. Contudo, devido à grande

variedade de cultivos atacados, à ocorrência em altas populações, à magnitude das perdas causadas e à redução na eficiência dos métodos de controle até então empregados, acreditou-se que poderia se tratar de espécie distinta de *H. zea*. Desta forma, procedeu-se à caracterização morfológica e molecular de vários exemplares coletados nas regiões com os maiores históricos de infestação e constatou-se tratar-se de *H. armigera* e *H. zea* (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013).

A espécie *H. armigera* é considerada como uma praga polífaga sendo encontrada em mais de 180 espécies cultivadas, as quais incluem algodão (*Gossypium hirsutum* L. Malvaceae), sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench Poaceae), milho (*Z. mays*), soja (*Glycine max* L. Fabaceae), tomate (*Solanum lycopersicum* L. Solanaceae), grão de bico (*Cicer arietinum* L. Fabaceae), girassol (*Helianthus annuus* L. Asteraceae), frutíferas, e plantas silvestres pertencentes a uma grande variedade de famílias (Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae) (POGUE, 2004).

No Brasil, as lagartas de *H. armigera* já foram constatadas se alimentando de várias culturas de importância econômica, tais como algodão, soja, milho, tomate, feijão, sorgo, milheto, guandu, trigo e crotalária, bem como de algumas espécies de plantas daninhas (ÁVILA et al., 2013). Pelo fato de ser uma espécie altamente polífaga, além das plantas hospedeiras preferenciais nas quais as fêmeas normalmente realizam as posturas, outros hospedeiros alternativos presentes nos arredores das lavouras assumem papel decisivo na sobrevivência e dinâmica sazonal da praga, uma vez que dão suporte à manutenção de suas populações em determinada região (FITT, 1989).

Ambas as espécies, *H. armigera* e *H. zea*, possuem desenvolvimento holometabólico. Os ovos de *H. armigera* são de coloração branco-amarelada com aspecto brilhante logo após a oviposição, adquirindo coloração marrom-escuro próximo à eclosão. O período de incubação é de 3,3 dias, com o comprimento variando de 0,42 a 0,60 mm e a largura de 0,40 a 0,55 mm (ALI et al., 2009; SINGH et al., 2014). As fêmeas normalmente realizam a oviposição no período noturno, de forma isolada ou em pequenos agrupamentos, preferencialmente na face adaxial das folhas ou sobre os talos, flores, frutos e brotações terminais com superfícies pubescentes (MENSAH, 1996).

Os ovos de *H. zea* são esféricos, possuem estrias radiais e diâmetro variável entre 0,5 a 0,6 mm e altura de 0,5 mm e coloração verde clara quando recém colocados se tornando avermelhados e acinzentados antes da eclosão, que ocorre dentro de 3-4 dias. Os ovos são normalmente depositados no estilo-estigma do milho e nas estruturas reprodutivas dos demais hospedeiros. A fecundidade varia de 500 a 3.000 ovos por fêmea (CAPINERA, 2015).

O período larval de *H. armigera* é completado com o desenvolvimento de seis distintos ínstaes. Em estudos morfométricos foi constatado que a média de duração do primeiro ao sexto instar larval foi respectivamente de 2,27, 2,42, 2,67, 2,83, 3,40 e 3,37 dias (ALI et al., 2009; SINGH et al., 2014). Os primeiros ínstaes larvais se alimentam, inicialmente, das partes mais tenras das plantas, onde podem produzir um tipo de teia ou até mesmo formar um pequeno casulo (ÁVILA et al., 2013).

Normalmente as lagartas de *H. zea* apresentam seis ínstaes porém não é incomum passarem por sete ou cinco ínstaes. O tempo gasto em cada instar é de 3,7, 2,8, 2,2, 2,2, 2,4 e 2,9 dias para o primeiro ao sexto instar, respectivamente, a 25°C (CAPINERA, 2015). Normalmente são gastos de 16-24 dias na fase larval, 1-6 dias na fase de pré-pupa, 12-21 dias na fase de pupa, com ciclo total de 33,4 a 45,4 dias, quando as lagartas se desenvolvem sobre dieta artificial, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A longevidade de machos e fêmeas é de 6-24 e 5-25 dias, respectivamente e a fecundidade total de 39 a 2.356 ovos (GIOLLO et al., 2006).

As lagartas de ambas as espécies são variáveis na coloração. De maneira geral a cápsula cefálica tende a ser laranja ou marrom clara. A medida que as lagartas crescem, adquirem diferentes colorações, do amarelo-palha ao verde, rosáceas, marrons ou pretas. Possuem uma faixa escura e larga lateralmente, acima dos espiráculos e uma faixa amarelo clara a branca abaixo dos espiráculos. Possuem ainda um par de faixas escuras estreitas no centro do dorso. O corpo apresenta numerosos pêlos e microespinhos. Nos últimos ínstaes, as lagartas adquirem pêlos brancos (KARÌM, 2000; ALI et al., 2009; CAPINERA, 2015). No caso da espécie *H. armigera*, segundo Ávila et al. (2013) a partir do quarto instar, as lagartas apresentam tubérculos abdominais escuros e bem visíveis na região dorsal do primeiro segmento abdominal, os quais são dispostos na forma de semicírculo, aparentando formato de sela, sendo esta característica determinante para a identificação das lagartas de *H. armigera*.

A pupa dessas espécies é do tipo obtecta, com coloração marrom-mógnio e superfície arredondada nas partes terminais, medindo entre 17 a 22 mm de comprimento e 5,5 mm de largura (ALI et al., 2009; CAPINERA, 2015). Sob condições ambientais específicas, no estágio pupal pode ocorrer diapausa, contribuindo para a manutenção local das populações mesmo após períodos não vantajosos para a reprodução e a sobrevivência (KARÌM, 2000).

As mariposas fêmeas de *H. armigera* apresentam as asas dianteiras amareladas, enquanto as dos machos são cinza-esverdeadas com uma banda ligeiramente mais escura no terço distal e uma

pequena mancha escurecida no centro da asa, em formato de rim. As asas posteriores são mais claras, apresentando uma borda marrom na sua extremidade apical. As fêmeas apresentam longevidade média de 11,7 dias e os machos de 9,2 dias (ALI et al., 2009). As fêmeas podem ovipositar de 2.200 a 3.000 ovos (NASERI et al., 2010).

Os adultos de *H. zea* alcançam de 35 a 40 mm de envergadura, também possuem coloração variável sendo as asas anteriores normalmente amarelo-amarronzadas ou verde-amareladas, possuindo uma pequena mancha reniforme e escura no centro. A asa posterior é mais clara, contendo uma faixa escura acompanhando a margem lateral e uma mácula discoide (lúnula) no centro da asa (ZUCHI et al., 1993).

As lagartas de *H. zea* concentram seu ataque nas estruturas reprodutivas dos hospedeiros (espigas, frutos, botões, maçãs, flores, panículas e vagens), apesar de também poderem atacar os colmos e as folhas, principalmente na ausência de estruturas reprodutivas (CABI, 2015).

As lagartas de *H. armigera* podem se alimentar de folhas e hastes das plantas, mas têm preferência pelas estruturas reprodutivas tais como botões florais, frutos, maçãs, espigas e inflorescências. A alimentação causa deformações ou podridões nas estruturas atacadas e pode levar a queda das mesmas (CUNNINGHAM et al., 1999; POGUE, 2004; TAY et al., 2013). Em muitas ocasiões é possível verificar as larvas se alimentando do conteúdo interno dos frutos, sem contudo, alojar-se totalmente dentro deles (KARİM, 2000; ALI et al., 2009).

Estima-se que as perdas anuais atribuídas à *H. armigera* em todo mundo são da ordem de US\$ 5 bilhões, excluindo custos socioeconômicos e ambientais associados ao seu controle (LAMMERS & MACLEOD, 2007). Vale destacar que o controle dessa espécie é mais difícil devido a alta capacidade desta praga em adquirir resistência aos agrotóxicos empregados para o seu controle (MARTIN et al., 2002; 2005; YANG et al., 2013). Adicionalmente, as plantas GM contendo a mesma classe de toxinas (Cry 1) da bactéria *B. thuringiensis*, que também possuem essa espécie como um dos seus alvos biológicos, possuem extensivas áreas cultivadas simultaneamente ou em sucessão no Brasil, resultando em uma enorme pressão de seleção sobre essa e outras pragas (TAY et al., 2013).

Desta forma, os prejuízos advindos da entrada desta praga no Brasil devem aumentar substancialmente. Na safra 2011/2012 foi registrado um grande surto de lagartas de *H. armigera* na região oeste da Bahia, especialmente no algodoeiro, quando foram constatadas perdas de até 80% da produção desta cultura, segundo relatos dos produtores (ÁVILA et al., 2013). Todavia, os

prejuízos causados por *H. armigera* no Brasil ainda não foram totalmente contabilizados, tendo em vista ser preciso uma validação dos estudos econômicos para mensurar as perdas causadas pela lagarta (CZEPAK et al., 2013).

Além dos fatores já descritos, tais como alta fertilidade e espectro muito mais amplo de hospedeiros e de ocorrência geográfica do que *H. zea*, outro fator que torna *H. armigera* uma grande ameaça para muitos ecossistemas é sua grande mobilidade (KARİM, 2000), tendo em vista que existem relatos de capacidade migratória de mais de 2.000 km.

Adicionalmente, tendo em vista que a separação morfológica de *H. armigera* de *H. zea* a campo é dificultada em virtude da grande proximidade existente entre ambas (SPECHT et al., 2013) o manejo diferenciado também é impossibilitado. Nesse aspecto, para se obter controle eficiente de lagartas de *H. armigera* nos sistemas de produção em que a praga vem se tornando problema, é necessário conhecer a dinâmica populacional do inseto no tempo e no espaço estabelecida nesse novo ambiente, bem como entender os principais fatores ambientais ou biológicos que podem facilitar ou dificultar o seu desenvolvimento (ÁVILA et al., 2013).

Desta forma, a compreensão da variabilidade genética entre as populações de *H. armigera* e dessas populações em relação à *H. zea* torna-se essencial para antever seu comportamento frente as diferentes estratégias e táticas do manejo integrado, auxiliando na previsão das respostas aos principais métodos de controle empregados para o manejo desse grupo de pragas (KHIABAN et al., 2010; YENAGI et al., 2012; TAY et al., 2013).

3.7. Divergência genética de *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae)

Conforme ressaltado anteriormente a subfamília Heliiothinae (Lepidoptera: Noctuidae) possui 381 espécies descritas, sendo os gêneros *Helicoverpa* e *Heliothis* àqueles que possuem maior importância econômica como pragas agrícolas. Considerando apenas o gênero *Helicoverpa* as principais espécies de importância econômica são *H. armigera* e *H. zea* (POGUE, 2013) que não possuem muitas características morfológicas diferenciadoras e facilmente reconhecíveis (SPECHT et al., 2013).

Adicionalmente, conforme mencionado previamente, no Brasil, até o ano de 2013, *H. armigera* era considerada uma praga quarentenária A1, sendo que o primeiro relato desta praga no

país foi realizado por Czepak et al. (2013), Specht et al. (2013) e Tay et al. (2013). Este fato pode ser considerado crítico para o agronegócio do Brasil devido às seguintes características deste inseto-praga: a) dispersão a longas distâncias (FARROW, 1984; PEDGLEY, 1985) e em diferentes altitudes (GREGG et al., 1993); b) adaptação a diversos hospedeiros (BEHERE et al., 2013); c) alta fecundidade (SUBRAMANIAN & MOHANKUMAR, 2006); d) resistência a diversos inseticidas (BIRD & DOWNES, 2014); e) resistência a toxinas de *B. thuringiensis* expressas em plantas geneticamente modificadas (NAIR et al. 2013); f) possibilidade de cruzamento com *H. zea* (LASTER & SHENG, 1995).

Segundo Behere et al. (2013) os fatores supra citados atuando isoladamente ou em conjunto, podem alterar a estrutura populacional deste inseto. Além disso, restrições evolutivas relacionadas com a maior adaptação a um determinado hospedeiro podem alterar os padrões de fluxo gênico entre estas populações (ZALUCKI et al, 2012). Inferências sobre a estrutura genética e do fluxo gênico entre populações e subpopulações brasileiras de *H. armigera* podem ser extraídas através do uso de marcadores moleculares (MASTRANGELO et al, 2014).

Neste interim, marcadores moleculares são fragmentos de DNA que podem ser usados para diferenciar um indivíduo do outro, ou seja, todo fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, correspondente a um gene expresso ou não do genoma (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Uma das formas de detecção do polimorfismo no DNA, pode ser encontrada no DNA genômico através da amplificação aleatória governada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) ilustrada através da técnica de RAPD (WILLIAMS et al. 1990). A grande vantagem deste marcador molecular no monitoramento da divergência genética entre populações é a rapidez, a simplicidade, a relação entre o custo-benefício do procedimento (BHAU et al, 2014).

Por fim, a compreensão da estrutura populacional, do fluxo gênico, bem como da divergência genética entre populações de *H. armigera* é de fundamental importância para o desenvolvimento de práticas eficientes no controle desta praga (LEITE et al., 2014).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A.; AHMAD, Z.; RAHMAN, F.; KHAN, F. R.; AHMAD, S. K. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection**, 4: 99-106, 2009.

ALMEIDA, A. C. L.; OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. O. Fatores relacionados à incidência e disseminação do vírus do mosaico comum do milho. **Fitopatologia Brasileira**, 26: 766-769, 2001.

ANDERSON, A. J.; BLEE, K. A.; YANG, K. Y. Commercialization of plant systemic defense activation: theory, problems and successes. In: SADIK, T.; BENT, E. (Eds.). **Multigenic and induced systemic resistance in plants**. New York: Springer, 2006, p.386-414.

ARAGÃO, C.A. **Avaliação de híbridos simples braquíticos de milho super doce (*Zeamays*L.) portadores do gene shrunken-2 (*sh2sh2*) utilizando o esquema dialélico parcial**. 2002. 101p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J.; BORSATO, L. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, 33:148-152, 2008.

ARAÚJO, L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; STADNIK, M. J. Avaliação de formulações de fosfito de potássio sobre *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro e no controle pós-infeccional da mancha foliar de *Glomerella* em macieira. **Tropical Plant Pathology**, 35: 54-59, 2010.

ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas.** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 12p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular Técnica, 23).

BARBIERI, V. H. B.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H.; DUARTE, J. M.; GOMES, L. S.; SANTANA, D. G. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamento e populações de plantas. **Horticultura Brasileira**, 23: 826-830, 2005.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda*(J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, 39: 996-1001, 2010.

BEHERE, G. T.; TAY, W. T.; RUSSELL, D. A.; KRANTHI, K. R.; BATTERHAM, P. Population genetic structure of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as inferred from EPIC-PCR DNA markers. **Plos One**: 8, e53448, 2013.

BHAU, B. S.; MECH, J.; BORTHAKUR, S.; BHUYAN, M.; BHATTACHARYYA, P. R. Morphological and genetic diversity studies among populations of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* from Assam, India. **Molecular Biology Reports**: 41, 7845-7856, 2014.

BIRD, L. J.; DOWNES, S. J. Toxicity and cross-resistance of insecticides to Cry2Ab-resistant and Cry2Ab-susceptible *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, 107: 1923-1930, 2014.

BLUM, L. E. B.; AMARANTE, C. V. T. D.; DEZANET, A.; LIMA, E. B. D.; NETO, P. H.; ÁVILA, R. D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo-azul em maçãs' Fuji'e'Gala'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 29: 265-268, 2007.

BOGORNI, P. C., & CARVALHO, G. S. Biologia de *Tuta Absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelichiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, 20: 49-61, 2012.

BORDALLO, P. N.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GABRIEL, A. P. C. Análise dialéctica de génotipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. **Horticultura Brasileira**, 23:123-127, 2005.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Séries históricas**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2>. Acesso em: 12 de janeiro de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa n. 38, de 14 de outubro de 1999**. Lista de pragas quarentenárias para o Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 14 de outubro de 1999. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/PDF/in_38_99.pdf. Acesso em 06 de novembro de 2014.

CABI. **Invasive species compendium: *Helicoverpa zea***. Disponível em: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26776>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2015.

CAMERON, P. J.; WALKER, G. P.; HERMAN, T. J. B.; WALLACE, A. R. Development of economic thresholds and monitoring systems for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, 94: 1104-1112, 2001.

CAPINERA, J. L. **Encyclopedia of entomology**. 2.Ed. v.1-4. Dordrecht: Springer, 2008. 4346p.

CAPINERA, J. L. **Corn earworm: *Helicoverpa zea***. Gainesville: University of Florida. Disponível em: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/corn_earworm.htm. Acesso em: 02 de fevereiro de 2015.

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

CIVIDANES, F. J.; BARBOSA, J. C. Efeitos do plantio direto e da consorciação soja-milho sobre inimigos naturais e pragas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 36: 235-241, 2001.

CLOYD, R. A.; BETHKE, J. A. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. **Pest Management Science**, 67: 3-9, 2011.

COLLINS, J. R. Control of arthropod pests with phosphorous acid and mono-esters and salts thereof. U.S. Patent No. 5206228, April 27. 1993. 10p.

COFFEY, M. D.; BOWER, L. A. In vitro variability among isolates of eight *Phytophthora* species in response to phosphorous acid. **Phytopathology**, 74, 738-742, 1984.

COHEN, M. D.; COFFEY, M. D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. **Annual Review of Phytopathology**, 24: 311-338, 1986.

COOK, P. J.; LANDSCHOOT, P. J.; SCHLOSSBERG, M. J. Inhibition of *Pythium* spp. and suppression of *Pythium* blight of turfgrasses with phosphonate fungicides. **Plant Disease**, 93: 809-814, 2009.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995, 45p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 21).

CRUZ, I.; MONTEIRO, M. A. R. **Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004, 4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 98).

CRUZ, I. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 192p.

CUNNINGHAM, J. P.; ZALUCKI, M. P.; WEST, S. A. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behavior and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research**, 89: 201-207, 1999.

CZEPACK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**: 43, 110–113, 2013.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defense responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 67: 194-201, 2006.

DEGRANDE, P.; OLIVEIRA, M.; SHIMORO, A.; BARROS, R. Controle químico do percevejo *Euschistus heros* (Fabr., 1794)(Heteroptera: Pentatomidae) na cultura da soja em aplicação aérea. **Revista Brasileira de Agrociência**, 6: 144-148, 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 2006. 306p.

FARROW, R. A. Detection of transoceanic migration of insects to a remote island in the Coral Sea, Willis Island. **Australian Journal of Ecology**: 9, 253-272, 1984.

FAURE, A.; GUERY, B.; GUINEFOLEAU, J. P.; WEISSENBERGER, A.; NAIBO, B.; DECOIN, M. Corn crops - 2003 plant health review: drought and insects. **Phytoma**, 567: 39-41, 2004.

FERNANDES, O. D.; PARRA, J. R. P.; NETO, A. F.; PICOLI, R.; BORGATTO, A. F.; DEMÉTRIO, C. G. B.; Efeito do milho geneticamente modificado mon810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 2: 25-35, 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220p.

FIGUEREDO, M. de L. C.; DIAS-MARTINS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 1693- 1698, 2006.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, 34: 17-53, 1989.

FORBES, A. A.; ROSENHEIM, J. A. Plant responses to insect herbivore damage are modulated by phosphorus nutrition. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 139: 242-249, 2011.

FÖRSTER, H.; ADASKAVEG, J. E.; KIM, D. H.; STANGHELLINI, M. E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, 82: 1165-1170, 1998.

GAO, R.; ZHANG, J. Effect of fermentation on ethanol production from fresh sweet corn stalks. **Acta Prataculturae Sinica**, 23: 154-159, 2014.

GILLIGAN, M.; PASSOA, S. **LepIntercept**: an identification resource for intercepted Lepidoptera larvae. Fort Collins: USDA, Colorado State University, Lucid, 2014. Disponível em: <http://idtools.org/id/leps/lepintercept/zea.html>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2015.

GIOLLO, F. P.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; BUSATO, G. R. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. **Revista Brasileira de Agrociência**, 8: 221-224, 2002.

GIOLLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; MANZONI, C. G.; BERNARDI, O.; ZART, M. biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociências**, 12: 167-171, 2006.

GREGG, P. C.; FITT, G. P.; COOMBS, M.; HENDERSON, G. S. Migrating moths (Lepidoptera) collected in tower-mounted light traps in northern New South Wales, Australia: species composition and seasonal abundance. **Bulletin of Entomological Research**: 83, 563-578, 1993.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. S. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, 49: 147-154, 2000

JARDIM, A. N.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food—Results from 2001 to 2010. **Food Control**, 25: 607-616, 2012.

KARIC, N.; FESTIC, H. Susceptibility of corn hybrids to damage from Western Corn Root worm adults (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte). **Works of the Faculty of Agriculture University of Sarajevo**, 55:89-100, 2010.

KARİM, S. Management of *Helicoverpa armigera*: a review and prospectus for Pakistan. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 3: 1213-1222, 2000.

KHIABAN, N. G. M. Z.; HEJAZI, M. S.; IRANI-NEJAD, K. H.; MOHAMMADI, S. A.; KHAGHANINIA, S. Genetic variability of geographical populations of the bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), in west and northwest of Iran. **Munis Entomology & Zoology**, 5: 670-676, 2010.

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

KWIATKOWSKI, A.; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zeamays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, 1: 93-103, 2007.

LAMMERS, J. W.; AND MACLEOD, A. 2007. **Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera*** (Hübner, 1808). Disponível em: <http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>.

Acesso em 02 de fevereiro de 2015.

LASTER M. L.; CHENG, C. F. Search for hybrid sterility for *Helicoverpa zea* in crosses between the north american *H. zea* and *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. **Journal of Economic Entomology**: 88, 1288–1291, 1995.

LEITE, N. A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A. S.; ZUCCHI, M. I.; OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **Plos One**, 9: e113286, 2014.

LEWIS, W. J., VAN LENTEREN, J. C., PHATAK, S. C., & TUMLINSON, J. H. A total system approach to sustainable pest management. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 94: 12243-12248, 1997.

LIMA-MENDONÇA, A.; MENDONÇA, A. D. L.; SANT'ANA, A. E. G.; DO NASCIMENTO, R. R. Semiochemicals of fruit flies of the genus *Anastrepha*. **Química Nova**, 37: 293-301, 2014.

LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. Phosphite fertilizers: what are they? Can you use them? What can they do. **Better Crops**, 90: 11-13, 2006.

LUZ J.M.Q.; CAMILO J. S.; BARBIERI V. H. B.; RANGEL R. M.; OLIVEIRA R. C. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, 32: 163-167, 2014.

MAGGIO, M.A. **Acúmulo de massa seca e extração de nutrientes por plantas de milho doce híbrido “Tropical”**. 2006. 55p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP.

MARTIN, T.; CHANDRE, F.; OCHOU, O. G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Pyrethroid resistance mechanisms in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 74: 17-26, 2002.

MARTIN, T.; OCHOU, O. G.; DJIHINTO A.; TRAORE D.; TOGOLA M. Controlling an insecticide-resistant bollworm in West Africa. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 107: 409-411, 2005.

MASTRANGELO, T.; PAULO, D. F.; BERGAMO, L. W.; MORAIS, E. G. F.; SILVA, M.; BEZERRA-SILVA, G.; AZEREDO-ESPIN, A. M. L. Detection and genetic diversity of a Heliothine invader (Lepidoptera: Noctuidae) from North and Northeast of Brazil. **Journal of Economic Entomology**: 107, 970-980, 2014.

MATO GROSSO (Estado). Instituto de Defesa Agropecuária do Estado do Mato Grosso (INDEA). **Portaria no . 29 de 25 de março de 2002**. Altera o anexo I da Portaria 013/2001, de 22 de junho de 2001. Disponível em: Acesso em: 02 de março de 2015.

MELLET, M. A.; SCHOEMAN, A. S.; BROODRYK, S. W.; HOFES, J. L. Bollworm (*Helicoverpa armigera* (Hubner), Lepidoptera: Noctuidae) occurrences in Bt- and non-Bt-cotton fields, Marble Hall, Mpumalanga, South Africa. **African Entomology**, 12: 107-115, 2004.

MENSAH, R. K. Suppression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast[®]. **Australian Journal of Entomology**, 35: 323-329, 1996.

MONSANTO. **Safety of genetically modified sweet corn**. Disponível em: <<http://www.monsanto.com/products/pages/safety-of-gm-sweet-corn.aspx>> Acesso em: 20 de janeiro de 2015.

MURÚA, M. G.; SCALORA, F. S., NAVARRO, F. R., CAZADO, L. E., CASMUZ, A., VILLAGRÁN, M. E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, 97: 854-856, 2014.

NAGOSHI, R. N.; SILVIE, P.; MEAGHER, L. R.; LOPEZ, J.; MACHADO, V. Identification and comparison of fall armyworm(Lepidoptera:Noctuidae) host strains in Brazil, Texas, and Florida. **Annals of the Entomological Society of America**, 100: 394-402, 2007.

NAIR, R.; KALIA, V.; AGGARWAL, K. K.; GUJAR, G. T. Variation in the cadherin gene sequence of Cry1Ac susceptible and resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and the identification of mutant alleles in resistant strains. **Current Science**, 104: 215-223, 2013.

NASERI, B.; FATHIPOUR, Y.; MOHARRAMIPOUR, S.; HOSSEININAVEH, V. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 13: 17-26, 2010.

OUIMETTE, D. G.; COFFEY, M. D. Comparative antifungal activity of four phosphonate compounds against isolates of nine Phytophthora species. **Phytopathology**, 79: 761-767, 1989.

OKUMURA, R. S.; MARIANO, D. C.; FRANCO, A. A. N.; ZACCHEO, P. V. C.; ZORZENONI, T.O. Sweet corn: genetic aspects, agronomic and nutritional traits. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, 6: 105-114, 2013.

PARENTONI, S. N.; GAMA, E. E. G.; MAGNAVACA, R.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; VILLAS BOAS, G. L. Milho doce. **Informe Agropecuário**, 14: 17-22, 1990.

PARRA, J. R. P. **Consumo e utilização de alimentos por insetos**. In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. (Eds.). *Ecoologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo: Manole, 1991. p.9-65.

PATTERSON, M.; ALYOKHIN, A. Survival and development of Colorado potato beetles on potatoes treated with phosphite. **Crop Protection**, 61: 38-42, 2014.

PEDGLEY, D. E. 1985. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, 36: 15-20, 1985.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C.; GAMA, E. E. G. Cultivares para o consumo verde. In: PEREIRA FILHO, I. A. (Ed.). **O cultivo do milho verde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.17-30.

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

POGUE, M. G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae). **Annals of the Entomological Society of America**, 97: 1222-1226, 2004.

POGUE, M. G. Revised status of *Chloridea* (Duncan and Westwood), 1841, for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae) based on morphology and three genes. **Systematic Entomology**: 38, 523–542, 2013.

PRAÇA, L. B.; SILVA NETO, S. P.; MONNERAT, R. G. ***Spodoptera frugiperda* J. Smith 1797 (Lepidoptera: Noctuidae):** biologia, amostragem e métodos de controle. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 22p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 199).

REIS, L.S. dos; **Desenvolvimento de genótipos de milho doce: avaliação de genitores**. 2009. 76p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.

RIGOTTO, R. M.; ROCHA, M. M.; VASCONCELOS, D .P. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, 30: 1360-1362, 2014.

RODRIGUES, N. E. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; FARIAS, P. D. S. Antibiosis and non-preference for oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) of cultivars of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Arquivos do Instituto Biológico**, 79: 25-31, 2012.

ROSA, A. P. A. DA.; TRECHA, C. O.; ALVES, A. C.; GARCIA, L.; GONÇALVES, V. P. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda* (JE SMITH) em linhagens de milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, 79: 39-45, 2012.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. D.; ECHER, M. D. M.; MARTINS, M. C.; BLAT, S. F. Phosphite effect on hot and sweet pepper reaction to *Phytophthora capsici*. **Scientia Agricola**, 61: 492-495, 2004.

SANTIAGO, G. P.; PÁDUA, L. E. de M.; SILVA, P. R. R.; CARVALHO, E. M. S.; MAIA, C. B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, 32: 792-796, 2008.

SANTOS, L. M. D.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G.; EFROM, C. F. S. Larval and pupal stage of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) in sweet and field corn genotypes. **Brazilian Journal of Biology**, 63: 627-633, 2003.

SANTOS, L. M. D., REDAELLI, L. R., DIEFENBACH, L. M. G., & EFROM, C. F. S. Fertility and longevity of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) in corn genotypes. **Ciência Rural**, 34: 345-350, 2004.

SARMENTO, R. A.; AGUIAR, R. W. de S.; AGUIAR, R. de A. S. de S.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, H. G. de; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, 18: 41-48, 2003.

SHARMA, R. K.; BAJRACHARYA, A. S. R. Measuring susceptibility in maize varieties in free and no choice tests against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzoper thadominica* (F.). **Annals of Plant Protection Sciences**, 14: 357-363, 2006.

SHELTON, A. M.; OLMSTEAD, D. L.; BURKNESS, E. C.; HUTCHISON, W. D.; DIVELY, G.; WELTY, C.; SPARKS, A. N. Multi-state trials of Bt sweet corn varieties for control of the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, 106: 2151-2159, 2013.

SILVA, A. C. da; RESENDE, M. L. V.; DE SOUZA, P. E.; SILVA, N. C. N.; SILVA, M. B.; VITORINO, L. R. R. Coffee-leaf extract and phosphites on the curative control of powdery mildew in eucalyptus mini-stumps. **Forest Pathology**, 43: 297-305, 2013.

SINGH, R.; LAKHANPAL, S. C.; KARKARA, B. K. Pests of strawberry in Paonta Valley, Himachal Pradesh. **Insect Environment**, 10: 81-82, 2004.

SINGH, S.; SINGH, R. S.; SHANKER, K.; KUMAR, J. Laboratory studies on morphometrics of gram pod borer, *Helicoverpa armigera* Hubner. **Journal of Experimental Zoology**, 17: 833-836, 2014.

SOARES, M. A.; LEITE, G. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; FERREIRA, C. S.; ROCHA, S. L.; SÁ, V. G. M. D. Assessment of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for biological control in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **Acta Scientiarum. Agronomy**, 36: 403-408, 2014.

SOUZA, R. S.de.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SCAPIM, C. A.; MARQUES, O. J.; QUEIROZ, D. C.; OKUMURA, R; S.; JOSÉ, J. V.; TAVORE, R. V. Elementos de produção de milho doce em diferentes densidades populacionais. **Comunicata Scientiae**, 4: 285-292, 2013.

SOUZA, M. W. de L.; CUNHA, R. F. da; COSTA, P. A. de A.; MOURA, I. N. B. M. de; BEZERRA, F. M. S.; LIMA, L. A.; PEREIRA, L. A. F.; OLIVEIRA, F. de A. de.

Desenvolvimento inicial de milho doce e milho pipoca sob estresse salino. **Agropecuária Científica no Semiárido**, 10: 65-72, 2014.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, 62: 82-87, 1979.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V. D.; YANO, S. A. C. Morphological and molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and expansion of its occurrence record in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: 48, 689-692, 2013.

STADNIK M. J; TALAMINI V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC. 2004. 293p.

STERN, V. M., SMITH, R. F., VAN DEN BOSCH, R., & HAGEN, K. S. The integrated control concept. **Hilgardia**, 29: 81-101, 1959.

STORCH, G.; LOECK, A. E.; GRACIA, M. S.; MAGANO, D. A.; LORENZETTI, R.; REMOR, M. Linha básica de suscetibilidade de inseticidas de ação por contato sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizados na cultura do milho. **Revista Brasileira de Agrociências**, 14: 291-297, 2008.

SUBRAMANIAN, S.; MOHANKUMAR, S. Genetic variability of the bollworm, *Helicoverpa armigera*, occurring on different host plants. **Journal of Insect Science**: 6, 1-8, 2006.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Plos One**, 8: e80134, 2013.

TEIXEIRA, F. F.; SOUSA, I. R. P.; GAMA, E. E. G.; PACHECO, C. A. P.; PARENTONI, S. N.; SANTOS, M. X.; MEIRELLES, W. F. Avaliação da capacidade de combinação entre linhagens de milho doce. **Ciência e Agrotecnologia**, 25: 483-488, 2001.

THAO, H. T. B.; YAMAKAWA, T. Phosphite (phosphorous acid): fungicide, fertilizer or bio-stimulator? **Soil Science and Plant Nutrition**, 55: 228-234, 2009.

TILMAN, D.; CASSMAN, K. G.; MATSON, P. A.; NAYLOR, R.; POLASKY, S. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, 418: 671-677, 2002.

TRACY, W.F. Sweet Corn. In: HALLAUER, A.R. (Ed.). **Specialty Corns**. 2. ed. New York: CRC Press, 2001. p. 155-198.

USDA - United States Department of Agriculture, **Foreign Agricultural Service – Table 04 Corn Area, Yield and Production**. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdreport.aspx?hidReportRetrievalName=BVS&hidReportRetrievalID=884&hidReportRetrievalTemplateID=1>. Acesso em: 09/03/2016.

VALICENTE, F. H.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Ocorrência e controle de pragas durante a safrinha de milho no Sudoeste Goiano**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 48).

VARADARAJAN, D. K.; KARTHIKEYAN, A. S.; MATILDA, P. D.; RAGHOTHAMA, K. G. Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. **Plant Physiology**, 129: 1232-1240, 2002.

VENTER, E.; MANSOOR, C. V.; SIBISI, P.; BOTHA, A. M. Potassium phosphate induces tolerance against the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Homoptera: Aphididae) in wheat. **Crop Protection**, 61: 43-50, 2014.

WAQUIL, J. M.; VILELLA, F. M. F. Gene bom. **Revista Cultivar**, 49: 22-26, 2003.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, 18: 6531–6535, 1990.

WILKINSON, C. J.; SHEARER, B. L.; JACKSON, T. J. Effect of phosphite in plant zoospore production of *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, 50: 587-593. 2001.

WORDELL FILHO J. A.; STADNIK M. J. Controle da mancha acinzentada da cebola e seu impacto sobre a qualidade de mudas. **Horticultura Brasileira**, 24: 437-441, 2004.

YANG, Y.; LI, Y.; WU, Y. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China. **Journal of Economic Entomology**, 106: 375–381, 2013.

YENAGI, B. S.; PATIL, V. C.; BIRADAR, D. P.; KHADI, B. M. Molecular diversity of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) using RAPD markers. **Middle-East Journal of Scientific Research**, 11: 61-65, 2012.

ZALUCKI, M. P.; CUNNINGHAM, J. P.; DOWNES, S.; WARD, P.; LANGE, C.; MEISSLE, M.; ZALUCKI, J. M. No evidence for change in oviposition behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae) after widespread adoption of transgenic insecticidal cotton. **Bulletin of Entomological Research**, 102: 468-476, 2012.

ZÁRATE, N. A. H.;do CARMO V. M.; SOUSA, T. M. de; RAMOS, D. D. Produção e renda líquida de milho verde em função da época de amontoa. **Semina: Ciências Agrárias**, 30: 95-100, 2009.

ZUCCHI, R. A. **Guia de identificação de pragas agrícolas**. Piracicaba: FEALQ, 1993. 139p.

CAPÍTULO I

FOSFITO DE POTÁSSIO AFETANDO O DESEMPENHO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO E O ACÚMULO DE NUTRIENTES PELO MILHO-DOCE

5. FOSFITO DE POTÁSSIO AFETANDO O DESEMPENHO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO E O ACÚMULO DE NUTRIENTES PELO MILHO-DOCE

5.1. RESUMO

A lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada praga-chave do milho, mas possui poucas práticas de manejo no milho doce em relação ao milho comum. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da aplicação de fosfito de potássio, em milho doce, sobre a biologia da lagarta-do-cartucho e determinar se a aplicação tópica influencia na sobrevivência de *S. frugiperda*. Para tal, foram realizados ensaios em casa de vegetação e em laboratório onde se testou doses equivalentes a 2, 4 e 6 L por hectare de fosfito de potássio 00-40-20 (Phytogard® Potássio, Stoller do Brasil LTDA, Campinas-SP), além da testemunha (água). Plantas da variedade Doce Cristal foram infestadas com cinco lagartas neonatas por planta e a sobrevivência das lagartas, seu desenvolvimento medido pela largura da cápsula cefálica, comprimento e peso corporal, o número, sobrevivência e peso das pupas obtidas, razão e proporção sexual e os teores foliares de macro e micro nutrientes foram obtidos. Na aplicação tópica, larvas de primeiro, segundo e terceiro instares foram tratadas com as mesmas concentrações de fosfito descritas anteriormente. A pulverização de fosfito de potássio reduziu a razão sexual de *S. frugiperda*, sendo esse efeito mais marcante nas doses de 2 e 6 L por hectare. A aplicação tópica de doses crescentes de fosfito de potássio aumentou a mortalidade de lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*. O uso de fosfito de potássio alterou os teores foliares de fósforo, enxofre, cálcio e boro.

Palavras-chave: Lagarta do cartucho do milho, *Zea mays* grupo *saccharata*.

5.2. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga chave da cultura do milho no Brasil e em todo o continente americano. As lagartas dessa espécie podem atacar o milho desde a fase de plântula até a fase reprodutiva, alimentando-se, inicialmente do limbo das folhas do cartucho, podendo atacar ainda as espigas, em ocorrência tardia (CRUZ,1995; VALICENTE et al., 2004). Normalmente, o controle dessa praga é feito através da pulverização de inseticidas (STORCH et al., 2008), ou do cultivo de plantas geneticamente modificadas incorporando as toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) (FERNANDES et al., 2003). Todavia, como o próprio nome vulgar desse inseto sugere, normalmente *S. frugiperda* concentra seu ataque em locais onde permanece parcialmente protegida do contato com produtos químicos empregados para o seu controle, fazendo-se necessário, em muitas ocasiões, o emprego de pulverizações através de jato dirigido ao cartucho da planta para obtenção de controle efetivo (SILVA, 1999).

Em casos em que as doses dos inseticidas empregados para o seu controle ou o contato com o alvo seja insuficiente para causar os efeitos de mortalidade desejados, as doses subletais podem induzir efeitos indesejados na população, incluindo a hormese (DEWER et al., 2016), ressurgência e resistência (BAO et al., 2009). Em adição a este fato, a tecnologia Bt, que tem contribuído para o manejo das populações de *S. frugiperda* no milho convencional (LOURENÇÃO & FERNANDES, 2013), ainda, não está disponível para o milho-doce no Brasil, apesar de já ser empregada em outros países (SHARMA & BAJRACHARYA, 2006). Vale destacar que em virtude do incremento nos teores de açúcares dos grãos desse tipo de milho, eles são naturalmente mais suscetíveis ao ataque de pragas que infestam os grãos (TRACY, 2001; SHELTON et al., 2013).

Nesse aspecto os sais do ácido fosforoso, conhecidos como fosfito, possuem ação supressiva de um grande número de doenças desencadeadas por Oomicetos tais como *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (Peronosporales: Pythiaceae) e *Pythium* spp. em batata (ANDERSON et al., 2006), *Phytophthora cinnamomi* Rands, *P. nicotianae* Breda de Haan e *P. palmivora* E.J. Butler (Peronosporales: Pythiaceae) em tremoço, fumo e mamão, respectivamente (SMILLIE et al., 1989). Os fosfitos, um termo genérico empregado para descrever os sais de ácido fosforoso (H₃PO₃), possuem um complexo modo de ação, exibindo tanto toxicidade direta sobre o patógeno,

inibindo o crescimento micelial, como toxicidade indireta através da inibição do seu crescimento causado pelo estímulo das respostas de defesa do hospedeiro em decorrência do acúmulo de fitoalexinas e de compostos fenólicos (SAINDRENAN et al., 1988; DANIEL & GUEST, 2006). Devido ao fato do fosfito se movimentar pelo floema (SAINDRENAN et al., 1988) o que o torna um composto sistêmico, mesmo pragas difíceis de serem atingidas por sua ação de contato, podem sofrer os efeitos de sua ação.

Além da ação direta e indireta sobre diversos fitopatógenos, os fosfitos também demonstram exercer efeito deletério sobre algumas espécies de inseto, incluindo alguns mastigadores [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Bucculatrix thurberiella* Busck (Lepidoptera: Bucculatricidae)] e sugadores [Frankliniella spp. (Thysanoptera: Thripidae), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)] (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014; VENTER et al., 2014).

Apesar de existirem trabalhos anteriores realizados no Brasil que relatam a ação do fosfito de potássio no controle de fungos fitopatogênicos da macieira (ARAÚJO et al., 2008), do feijoeiro (CAIXETA et al., 2012), do trigo (SANTOS, 2008), da soja (CARVALHO, 2010), dentre outros cultivos, não existem relatos de trabalhos que tenham investigado a ação desses compostos sobre insetos-praga no país, ou sobre o inseto-praga foco deste trabalho dentro e fora do Brasil.

Além disso, devido a todas as ações atribuídas a esses compostos (SAINDRENAN et al., 1988; DANIEL & GUEST, 2006), eles podem possuir aplicabilidade no sentido de retardar a evolução de resistência a inseticidas em populações de *S. frugiperda*, ao tornar as lagartas mais vulneráveis à ação dos produtos empregados para o seu controle, mesmo quando sejam atingidas por sub-dosagens, o que merece estudos. Logo, mesmo que o efeito causador de toxicidade aguda nos insetos devido à aplicação de fosfito seja pequeno, esses compostos podem se constituir em importantes ferramentas a serem incorporadas no manejo integrado de *S. frugiperda* para obtenção de controle efetivo da praga. Desta forma, esse trabalho avaliou a ação do fosfito de potássio sobre os teores de nutrientes foliares e sobre a mortalidade, biologia e o ataque de *S. frugiperda* ao milho doce.

5.3. MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Condições gerais de experimentação

Os tratamentos foram representados pelas concentrações de 2, 4 e 6 L/ha de fosfito de potássio 00-40-20 (Phytogard[®] Potássio, Stoller do Brasil LTDA, Campinas-SP), além da água, empregada como testemunha. A dose inicial foi estipulada tendo em vista a recomendação fornecida pelo fabricante, que é de 2 L/ha de fosfito de potássio, para a cultura do milho. As demais doses foram escolhidas com expectativa de obter as maiores concentração do ingrediente ativo, sem, no entanto, gerar sintomas de fitotoxicidade nas plantas. Em todos os ensaios foi utilizada a variedade de milho doce, Doce Cristal da Embrapa.

As plantas foram cultivadas em vasos de polietileno de 5L, preenchidos com substrato obtido pela mistura dos seguintes materiais nas seguintes proporções: 160 L de terra de barranco, 100 g de sulfato de amônio, 800 g de superfosfato simples, 250 g de calcário, 20 L de palha de arroz e 20 L de palha de arroz carbonizada. Cada vaso recebeu cinco sementes, sendo realizado o desbaste, aos 30 dias após o plantio (DAP), mantendo-se apenas duas plantas mais vigorosas por vaso.

As lagartas de *S. frugiperda* empregadas nas infestações foram obtidas da criação massal mantida pela empresa Pioneer, em Planaltina, DF, sob dieta artificial.

5.3.2 Biologia do inseto

As plantas foram cultivadas e mantidas em casa de vegetação da Fazenda Água Limpa (FAL) e as avaliações foram realizadas no Laboratório de Proteção de Plantas, ambos pertencentes à Universidade de Brasília.

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (2, 4 e 6 L/ha), além da testemunha, e cinco repetições. Cada vaso (unidade experimental) continha duas plantas, de tal forma a totalizar cinco unidades experimentais por tratamento e um total de 20 unidades experimental. Todavia, o número de unidade experimentais (vasos) implantadas foi cinco vezes o número necessário (compatível com o número de instares comumente verificados para *S. frugiperda*), sendo 100 vasos no total, em virtude das análises das plantas para acompanhamento das lagartas serem destrutivas.

Aos 10 dias após o plantio, foi realizada a primeira adubação de cobertura, adicionando-se 2,4 g de sulfato de amônio e 0,46 g de cloreto de potássio em cada vaso. Aos 30 dias após o plantio foi realizada a segunda adubação de cobertura, empregando-se as mesmas quantidades dos adubos da primeira adubação de cobertura.

Quatro dias após a realização da segunda adubação de cobertura foi realizada a pulverização das plantas com as soluções contendo o fosfito de potássio e a água, sendo utilizado pulverizador de precisão acoplado a cilindro de CO₂ e equipado com bico cone regulado para a pressão de 30 kPa resultando em vazão final de 404 L por hectare. Decorridos dois dias da pulverização, as plantas foram infestadas com cinco larvas neonatas por planta.

Decorridos 3, 7, 11, 17 e 24 dias após a infestação (DAI), as plantas contidas em 20 dos 100 vasos cultivados foram destruídas para contabilização do número de lagartas vivas e mortas de *S. frugiperda* e medição do comprimento do corpo e da cápsula cefálica das lagartas obtidas. Essas medidas foram realizadas em até três das lagartas obtidas, que foram mantidas em álcool 70% até o momento de realização das medições. Na última avaliação, aos 24 DAI, uma das duas plantas cultivadas nos vasos foi usada nas avaliações para mensuração do comprimento do corpo e da cápsula cefálica, além de obtenção do peso das lagartas em balança de precisão analítica modelo M6202. O comprimento do corpo, bem como a largura da cápsula cefálica foram mensurados em Lupa Coleman modelo XTB 2B contendo ocular com retículo micrométrico acoplado, sob aumento de 4 a 40x. A outra planta remanescente da repetição (vaso) foi empregada para contabilização das lagartas, sendo então destinadas a recipientes plásticos transparentes de 150 mL de capacidade e mantidas junto com os respectivos cartuchos das plantas, até que atingissem a fase de pupa, onde foram observadas diariamente. Quando atingiram a fase de pupa, as pupas foram pesadas e sexadas.

Em cada uma das avaliações realizadas após a retirada das lagartas, as duas folhas do cartucho foram acondicionadas em sacos de papel kraft de 5 kg de capacidade e submetidas à estufa com circulação forçada de ar regulada a 75 °C, até atingir peso constante. Em seguida, esse material foi moído em moinho Willey, sendo as amostras enviadas ao Laboratório de Fertilidade da Embrapa Hortaliças, DF visando a dosagem dos teores de P, K, S, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn e B de acordo com a metodologia prevista no manual da EMBRAPA (1997).

Na última avaliação, aos 24 DAI, antes das folhas serem destinadas à secagem, elas foram dispostas sobre TNT preto e fotografadas com câmera de 8 megapixels de definição, contendo uma

régua ao lado como referência para futura determinação da perda da área foliar com auxílio do software Image J (RASBAND, 2015). Por meio da indicação manual, no software Image J, da área da circunferência da folha e das áreas consumidas por *S. frugiperda*, foram obtidos os dados de área foliar total e área foliar consumida por *S. frugiperda* e calculada a área foliar perdida por meio da razão entre área foliar danificada e área foliar total.

Os dados do comprimento do corpo e da cápsula cefálica foram padronizados para a média por lagarta. A viabilidade larval e pupal foram calculadas como sendo a razão entre o número final de insetos/número inicial x 100. Os dados de viabilidade larval, comprimento larval, largura da cápsula cefálica, peso de lagartas e pupas, viabilidade pupal, área foliar perdida e porcentagem de área foliar perdida foram comparados em relação aos efeitos de tratamentos através de análise de variância seguida de teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa SAS (SAS, 2002). A razão sexual foi calculada através da fórmula $\Sigma\text{♀}/\Sigma(\text{♀}+\text{♂})$.

5.3.3 Efeitos da aplicação tópica de fosfito de potássio sobre a mortalidade da lagarta-do-cartucho do milho

O experimento foi conduzido no Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade de Brasília, Brasília, DF. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, 2, 4, 6 L de fosfito de potássio e a testemunha, com cinco repetições.

Lagartas de primeiro, segundo e terceiro ínstaes foram separadas e dispostas sob placas de *Petri* de 60 x 100 mm em grupos de 10 indivíduos por placa. Em seguida, as soluções contendo fosfito de potássio e água foram aplicadas sobre as lagartas com auxílio de micropipeta modelo Gilson de 1 mL. As soluções foram ajustadas para um volume final de calda de de 137 L por hectare.

Para que ocorresse cobertura completa das lagartas, cada placa de petri recebeu 100, 300 e 600 µl de solução, respectivamente para os primeiro, segundo e terceiro instares. Após a aplicação das soluções, adicionou-se cerca de 3 g de dieta artificial por placa de *Petri*. A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 h após o início do ensaio, sendo os valores da mortalidade corrigidos para a mortalidade ocorrida na testemunha utilizando a fórmula de Schenneider-Orelli (Püntener, 1981), descrita a seguir:

$$Mc (\%) = (Mtrat - Mtest/100 - \%Mtest) * 100,$$

onde, M_c = Mortalidade no tratamento corrigida pela mortalidade na testemunha (%); M_{trat} = Mortalidade no tratamento (%); M_{test} = Mortalidade na testemunha (%).

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o programa SAS (SAS, 2002).

5.4.1 Biologia do inseto

O tamanho das cápsulas cefálicas de *S. frugiperda* não variou significativamente em relação as doses de fosfito de potássio ao longo das cinco datas de avaliação (Tabela 5-1). As datas de avaliação foram traçadas tendo como parâmetro a mudança de ínstar desta espécie e, desta forma, os valores observados nesse trabalho são próximos aos valores descritos por Santos et al. (2003), que foram obtidas em duas diferentes cultivares de milho doce. Caso os tratamentos apresentassem efeito sobre o inseto, a largura da cápsula seria menor em relação à testemunha, devido ao menor desenvolvimento do inseto na planta pulverizada com as soluções contendo fosfito, a exemplo do que ocorre quando *S. frugiperda* é alimentada com folhas tratadas com extrato aquoso de nim (VIANA & PRATES, 2003).

Também poderia ter ocorrido o alongamento do tempo requerido para completar o instar, a exemplo do que foi verificado por Patterson & Alyokhin (2014) que observaram que os indivíduos de *L. decemlineata* alimentados com folhas de batata mergulhadas em solução de fosfito de potássio na dose de 6.270 g de i.a./ha e empregando um volume de calda de 458 L/ha necessitaram de mais tempo para completar o terceiro e o quarto instares em relação aos indivíduos que não receberam folhas tratadas.

Tabela 5-1. Largura da cápsula cefálica (mm) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (\pm EPM) em função das doses de fosfito de potássio aplicadas em plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae). Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015.

Doses (L/ha)	Dias após a infestação (DAI) das plantas com lagartas				
	3	7	11	17	24
0	0,404 \pm 0,0194A	0,638 \pm 0,013A	0,866 \pm 0,047A	1,614 \pm 0,148A	2,454 \pm 0,110A
2	0,404 \pm 0,017A	0,585 \pm 0,056A	0,888 \pm 0,029A	1,440 \pm 0,074A	2,590 \pm 0,109A
4	0,430 \pm 0,0138A	0,638 \pm 0,008A	0,934 \pm 0,024A	1,864 \pm 0,124A	2,480 \pm 0,087A
6	0,402 \pm 0,0239A	0,612 \pm 0,011A	0,910 \pm 0,042A	1,742 \pm 0,129A	2,570 \pm 0,247A
F _{GL} P	F _{3,16} = 0,49 P = 0,6913	F _{3,15} = 0,95 P = 0,4413	F _{3,16} = 0,62 P = 0,6109	F _{3,15} = 1,92 P = 0,1703	F _{3,15} = 0,18; P = 0,9111

*Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a $p < 0,05$.

Observou-se diferença significativa no comprimento do corpo de lagartas de *S. frugiperda* somente na avaliação realizada três dias após a infestação (DAI) (Tabela 5-2). O tratamento que recebeu o equivalente a 4 L de fosfito por hectare proporcionou a maior média do comprimento corporal, seguido pelos demais tratamentos que não diferiram entre si (Tabela 5-2).

Tabela 5-2. Comprimento do corpo de lagartas *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (em mm) (\pm EPM), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Dias após a infestação (DAI) das plantas com lagartas				
	3	7	11	17	24
0	2,284 \pm 0,109B	4.644 \pm 0.147A	7,554 \pm 0,311A	13.790 \pm 1.866A	23,706 \pm 2,175A
2	2,148 \pm 0,115B	4.362 \pm 0.140A	7,554 \pm 0,311A	12.837 \pm 1.065A	23,010 \pm 1,566A
4	2,972 \pm 0,142A	4.650 \pm 0.057A	7,760 \pm 0,362A	15.872 \pm 1.508A	22,584 \pm 0,797A
6	2,256 \pm 0,071B	4.706 \pm 0.181A	7,186 \pm 0,458A	15.582 \pm 1.525A	22,126 \pm 1,951A
F _{GL} P	(F _{3,16} =11,25; p=0,003)	(F _{3,15} =1,10; p=0,3814)	(F _{3,16} =1,58; p=0,2330)	(F _{3,15} =0,82; p=0,5046)	(F _{3,15} =0,16; p=0,9227)

* Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a p<0,05..

A viabilidade da fase larval foi diferente em duas das cinco avaliações realizadas, aos 7 e aos 24 DAI (Tabela 5-3). Nestas duas avaliações foi verificada menor viabilidade no tratamento correspondente a 2 L de fosfito de potássio por hectare. A maior viabilidade ocorreu na testemunha e no tratamento correspondente a 4 L de fosfito por hectare aos 7 DAI, enquanto que a, dose de 6 L por hectare apresentou valores intermediários. Aos 24 DAI, a maior viabilidade foi obtida na dose de 4 L por hectare, com a testemunha e a dose de 6 L por hectare apresentando valores intermediários entre o maior e o menor valor (Tabela 5-3).

Efeito semelhantes de redução na viabilidade larval também foi detectado por Patterson & Alyokhin (2014), para larvas de terceiro e quarto instares, de *L. decemlineata* que foram expostas a plantas de batata tratadas com fosfito de potássio.

A ação do fosfito de potássio demonstrada na menor dose testada neste trabalho pode ser explicada pelos estudos realizados por Perez et al. (1995). Estes autores observaram que o fosfito de potássio aplicado em doses menores ativa os mecanismos de proteção da planta, como a produção de fitoalexinas e compostos fenólicos. Jackson et al. (2000), por sua vez, observaram que doses maiores do fosfito têm ação direta sobre o organismo nocivo, tais como as verificadas em relação à dose de 6 L por hectare.

Tabela 5-3. Viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (em %) (\pm EPM), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Dias após a infestação (DAI) das plantas com lagartas				
	3	7	11	17	24
0	60,00 \pm 18,166A	72,00 \pm 16,553A	70,00 \pm 16,432A	56,00 \pm 8,718A	44,00 \pm 9,274AB
2	74,00 \pm 13,266A	20,00 \pm 12,649B	60,00 \pm 16,432A	52,00 \pm 15,937A	20,00 \pm 7,071B
4	52,00 \pm 17,146A	74,00 \pm 10,296A	74,00 \pm 10,770A	72,00 \pm 15,937A	54,00 \pm 6,782A
6	90,00 \pm 7,746A	48,00 \pm 6,633AB	54,00 \pm 14,000A	58,00 \pm 10,677A	26,00 \pm 6,782AB
F _{GL} ^P	(F _{3,16} =1,30; p=0,3099)	(F _{3,16} =4,37; p=0,0198)	(F _{3,16} =0,39; p=0,7599)	(F _{3,16} =0,43; p=0,7319)	(F _{3,16} =4,35; p=0,0202)

*Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey a $p < 0,05$.

Os parâmetros peso de lagartas, duração da fase larval, peso de pupas e duração da fase de pupa de *S. frugiperda* foram similares em função das doses de fosfito empregadas neste estudo (Tabela 5-4).

A resposta encontrada neste estudo relativo ao tempo gasto para completar a fase larval, difere do esperado se comparado com resultados encontrados por Patterson & Alyokhin (2014). Apesar de estudar uma espécie diferente, esses autores encontraram que o fosfito de potássio aumentou significativamente o tempo gasto para *L. decemlineata* alcançar a fase adulta, bem como aumentou a duração do terceiro e quarto instares larvais. Todavia, as doses do composto empregadas no estudo desses autores (6.270 g de i.a./ha), foram bem superiores às usadas neste estudo, algo que pode justificar a divergência nos resultados obtidos.

Tabela 5-4. Peso de lagartas (em g) e pupas e duração da fase larval (dias) (\pm EPM), de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) estimados aos 24 dias após a infestação (DAI) em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura média: 19,6° C; UR média: 79,5%. Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Peso de lagartas (g)	Peso de Pupas (g)	Duração da fase larval (dias)
0	0,213 \pm 0,027A	0,257 \pm 0,018A	28,87 \pm 0,581A
2	0,233 \pm 0,024A	0,267 \pm 0,008A	28,00 \pm 0,00A
4	0,286 \pm 0,037A	0,242 \pm 0,014A	28,07 \pm 0,529A
6	0,317 \pm 0,062A	0,265 \pm 0,0226A	27,67 \pm 0,421A
F _{GL} ^P	(F _{3,35} = 1,10; p=0,3636)	(F _{3,31} = 0,72; p=0,5450)	(F _{3,31} = 0,53; p=0,6659)

*Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey a p<0,05.

Também não foram observados efeitos significativos dos tratamentos com fosfito de potássio sobre a viabilidade pupal e tampouco sobre o período pupal de *S. frugiperda* (Tabela 5-5).

Tabela 5-5. Viabilidade pupal (em %) e média de período pupal (em dias) (\pm EPM) de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), em função do tratamento das plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) com fosfito de potássio. Temperatura: 25 \pm 1 °C; UR: 40 \pm 15 %; Fotofase: 12 horas. Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Viabilidade pupal (%)	Média período pupal (dias)
0	75,00 \pm 19,36A	6,67 \pm 1,76A
2	80,00 \pm 20,00A	2,40 \pm 2,40A
4	78,33 \pm 9,72A	9,03 \pm 0,20A
6	40,00 \pm 24,49A	3,80 \pm 2,33A
F _{GL} ^P	(F _{16,3} = 0,98; p=0,4255)	(F _{16,3} = 2,45; p=0,1012)

*Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey a p<0,05.

Em relação a área foliar consumida, bem como a porcentagem de área foliar perdida não foram observados efeitos significativos das doses de fosfito de potássio (Tabela 5-6). Entretanto, verifica-se o mesmo padrão observado em relação a outras variáveis analisadas, onde o tratamento

de 2 L por hectare apresentou valores semelhantes ao tratamento correspondente a maior dose (6 L por hectare), proporcionando o menor consumo da área foliar (em cm²) e porcentagem da área foliar consumida (Tabela 5-6).

Patterson & Alyokhin (2014) observaram a redução da desfolha provocada pelo besouro *L. decemlineata* às plantas de batatas tratadas com fosfito de potássio na dose de 6.270 g de i.a./ha. Ainda, segundo esse estudo a diferença foi incrementada conforme as avaliações foram sendo realizadas, chegando a mais de 50%, três semanas após o início das observações.

Tabela 5-6. Área (em cm²) e porcentagem de área foliar consumida (\pm EPM) em decorrência do ataque de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) às plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) tratadas com fosfito de potássio. Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Área foliar consumida	Porcentagem de área foliar consumida
0	25,03 \pm 4,03A	7,47 \pm 0,94A
2	14,81 \pm 2,84A	5,46 \pm 1,11A
4	21,28 \pm 2,37A	7,59 \pm 0,90A
6	13,49 \pm 4,72A	4,74 \pm 1,75A
F _{GL} ^P	(F _{3,15} = 2,15; p =0,1366)	(F _{3,15} = 1,32; p =0,3038)

*Médias seguidas por diferentes letras na coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey a p<0,05.

A proporção sexual e a razão sexual foram alteradas em todos os tratamentos que receberam aplicação do fosfito de potássio, sendo a alteração mais significativa nos tratamentos correspondentes as doses de 2 e 6 L de fosfito por hectare (Tabela 5-7). Nessas doses foi observado o aumento da proporção machos:fêmeas em duas e quatro vezes, respectivamente, em relação à testemunha, com conseqüente redução da razão sexual nesses tratamentos.

Tabela 5-7. Proporção de machos: fêmeas e razão sexual de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), em função das doses de fosfito de potássio aplicadas às plantas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae). Brasília, DF, 2015.

Dose (L/ha)	Proporção machos:fêmeas	Razão Sexual
0	1,00:1,70	0,62
2	2,00:1,00	0,33
4	1,15:1,00	0,50
6	4,00:1,00	0,20

Foram observadas diferenças significativas entre os teores de macro e micronutrientes em três dos períodos de avaliação analisados, isto é, aos 7, 11 e 24 DAI (Tabela 5-8). Em relação ao fósforo (P) foram observadas diferenças significativas somente nas avaliações aos 11 e 24 DAI (Tabela 5-8). Na avaliação aos 11 DAI a dose de 2 L ha⁻¹ de fosfito de potássio promoveu maior teor de P foliar do que a dose de 6 L ha⁻¹, não havendo diferenças entre as demais doses aplicadas. Já na avaliação realizada aos 24 DAI a dose de 6 L ha⁻¹ promoveu maior teor de P do que as doses de 0 e 2 L ha⁻¹, e não diferiu da dose de 4 L ha⁻¹ (Tabela 5-8).

Aos 7 DAI, o elemento enxofre diferiu estatisticamente em razão das doses de fosfito, sendo a maior média observada no tratamento de 4 L por hectare seguido pelos tratamentos de 2 e 6 L, com o menor valor associado à testemunha (Tabela 5-8).

Aos 11 DAI foram detectadas diferenças significativas para os elementos enxofre, cálcio e boro. Para os elementos cálcio e enxofre a testemunha apresentou os maiores teores destes elementos; já para o micronutriente boro foi observado o maior teor no tratamento correspondente a 2 L de fosfito por hectare. Os menores teores de enxofre e de boro foram associados a dose de 4 L por hectare, com as doses de 2 e 6 L por hectare apresentando teores intermediários. No caso do cálcio não foram detectadas diferenças significativas entre os teores acumulados para as demais doses de fosfito testadas (Tabela 5-8).

Aos 24 DAI também foram verificadas diferenças significativas em relação aos teores de boro acumulados entre os tratamentos, sendo os maiores teores associados às doses de 2 e 4 L de fosfito por hectare e o menor teor acumulado pela testemunha, com a dose de 6 L por hectare acumulando teores intermediários entre estes extremos (Tabela 5-8).

Os resultados encontrados por Thao et al. (2008) são similares aos obtidos na avaliação realizada aos 24 DAI (Tabela 5-8), tendo em vista que esses autores também detectaram maiores

concentrações de fósforo conforme o aumento das doses de fosfito veiculadas via adubação foliar. Porém, Schroetter et al. (2006), detectaram que o fosfito não foi oxidado à fosfato em plantas de milho, ou seja, o fosfito não se tornou disponível em uma forma de fósforo que fosse utilizável pelas plantas.

Os teores de P foliar observados na avaliação aos 24 DAI demonstram uma proporção de aumento muito maior do que as proporções das doses aplicadas. A elevação dos teores de P em proporções maiores que a ofertada pelos tratamentos pode ser explicada por um efeito estimulante do fosfito na absorção de nutrientes, fato relatado por Gómez-Merino e Trejo-Téllez (2015).

Tendo em vista a faixa de teores ideais de macro e micronutrientes sugerida por Malavolta et al. (1997), de maneira geral, observou-se deficiência de quase todos os elementos analisados (Tabela 5-8), percebendo-se aumento da deficiência dos nutrientes conforme as avaliações foram avançando. Nota-se que o potássio foi um dos elementos com teores ideais em grande parte das avaliações, algo que ocorreu, possivelmente devido ao parcelamento das adubações de cobertura (Tabela 5-8). Considerando que o substrato utilizado neste ensaio continha terra de barranco, tais níveis de deficiência encontrados para P, Ca, Mg, Mn e B (Tabela 5-8), podem ser explicados pela baixa disponibilidade destes elementos encontrados neste perfil em solos do cerrado (SOUSA & LOBATO, 2004).

Tabela 5-8. Teores de macro e micronutrientes (\pm EPM) acumulados por folhas de milho doce (*Zea mays* grupo *saccharata* L. Poaceae) submetidas a pulverização com diferentes doses de fosfito de potássio em diferentes épocas de avaliação. Brasília, DF, 2014.

Nutrientes* (valores referência**)	Avaliação aos 3DAI				
	Dose de fosfito de potássio (L/ha)				
	0	2	4	6	
P (2,3-2,5)	1,99 \pm 0,21 A	2,35 \pm 0,66 A	2,87 \pm 0,10 A	2,75 \pm 0,68 A	F _{3,8} = 1,20; p = 0,37
K (17,5-22,5)	24,14 \pm 0,81 A	33,53 \pm 1,74 A	32,37 \pm 0,54 A	30,33 \pm 4,42 A	F _{3,8} = 2,97; p = 0,10
S (1,5-2,0)	1,41 \pm 0,10 A	1,56 \pm 0,08 A	1,52 \pm 0,10 A	1,43 \pm 0,10 A	F _{3,8} = 0,58; p = 0,65
Ca (2,5-4,0)	1,84 \pm 0,21 A	2,43 \pm 0,19 A	2,28 \pm 0,25 A	1,84 \pm 0,01 A	F _{3,8} = 2,54; p = 0,13
Mg (2,5-4,0)	1,62 \pm 0,22 A	1,86 \pm 0,02 A	1,87 \pm 0,15 A	1,70 \pm 0,10 A	F _{3,8} = 0,74; p = 0,55
Fe (50,0-250,0)	82,43 \pm 18,23A	113,67 \pm 4,09A	122,33 \pm 6,33A	96,40 \pm 15,70A	F _{3,8} = 2,00; p = 0,20
Mn (50,0-150,0)	35,40 \pm 2,10 A	39,03 \pm 4,60 A	44,68 \pm 3,44 A	34,20 \pm 1,40 A	F _{3,8} = 2,17; p = 0,17
Zn (15,0-50,0)	27,47 \pm 2,32 A	33,83 \pm 2,23 A	32,73 \pm 0,46 A	28,80 \pm 2,05 A	F _{3,8} = 2,52; p = 0,13
B (15,0-20,0)	9,36 \pm 0,72 A	7,64 \pm 0,38 A	7,02 \pm 0,54 A	7,40 \pm 0,77 A	F _{3,8} = 2,75; p = 0,11

Nutrientes* (valores referência**)	Avaliação aos 7DAI				
	Dose de fosfito de potássio (L/ha)				
	0	2	4	6	
P (2,3-2,5)	1,80 \pm 0,30 A	2,46 \pm 0,27 A	2,50 \pm 0,24 A	1,84 \pm 0,07 A	F _{3,8} = 2,57; p = 0,12
K (17,5-22,5)	20,00 \pm 0,75 A	25,40 \pm 0,81 A	25,16 \pm 1,21 A	24,06 \pm 1,81 A	F _{3,8} = 4,19; p = 0,04
S (1,5-2,0)	1,08 \pm 0,07 B	1,41 \pm 0,11 AB	1,50 \pm 0,05 A	1,17 \pm 0,05 AB	F _{3,8} = 6,87 ; p = 0,01
Ca (2,5-4,0)	1,80 \pm 0,30 A	1,80 \pm 0,14 A	1,72 \pm 0,05 A	2,05 \pm 0,05 A	F _{3,8} = 0,73; p = 0,56
Mg (2,5-4,0)	1,63 \pm 0,18 A	1,61 \pm 0,13 A	1,64 \pm 0,09 A	1,81 \pm 0,02 A	F _{3,8} = 0,51; p = 0,70
Fe (50,0-250,0)	170,47 \pm 64,43A	94,43 \pm 26,0 A	99,00 \pm 24,02A	120,37 \pm 41, A	F _{3,8} = 0,68; p = 0,58
Mn (50,0-150,0)	28,87 \pm 4,10 A	43,47 \pm 5,32 A	44,23 \pm 2,41 A	39,06 \pm 4,45 A	F _{3,8} = 2,54; p = 0,13
Zn (15,0-50,0)	28,40 \pm 2,64 A	26,50 \pm 2,95 A	28,80 \pm 3,24 A	32,70 \pm 2,76 A	F _{3,8} = 0,84; p = 0,50
B (15,0-20,0)	7,25 \pm 1,03 A	10,44 \pm 0,96 A	10,85 \pm 2,12 A	13,50 \pm 3,86 A	F _{3,8} = 1,22; p = 0,36

Nutrientes* (valores referência**)	Avaliação aos 17DAI				
	Dose de fosfito de potássio (L/ha)				
	0	2	4	6	
P (2,3-2,5)	2,24 \pm 0,43 A	2,43 \pm 0,5 A	2,45 \pm 0,29 A	1,99 \pm 0,01 A	F _{3,8} = 0,66; p = 0,60
K (17,5-22,5)	29,30 \pm 2,35 A	26,27 \pm 1,21 A	24,33 \pm 1,03 A	28,37 \pm 2,77 A	F _{3,8} = 1,26; p = 0,35
S (1,5-2,0)	1,52 \pm 0,10 A	1,33 \pm 0,01 A	1,31 \pm 0,17 A	1,36 \pm 0,09 A	F _{3,8} = 0,80; p = 0,53
Ca (2,5-4,0)	1,96 \pm 0,06 A	1,61 \pm 0,09 A	1,55 \pm 0,22 A	1,82 \pm 0,072 A	F _{3,8} = 2,14; p = 0,17
Mg (2,5-4,0)	1,51 \pm 0,03 A	1,46 \pm 0,07 A	1,48 \pm 0,23 A	1,75 \pm 0,12 A	F _{3,8} = 1,00; p = 0,44
Fe (50,0-250)	136,10 \pm 43,91A	106,10 \pm 28,96 A	117,97 \pm 22,14 A	152,03 \pm 41,55 A	F _{3,8} = 0,33; p = 0,81
Mn (50-150)	38,23 \pm 2,21 A	34,17 \pm 7,35 A	33,23 \pm 4,88 A	36,13 \pm 1,96 A	F _{3,8} = 0,23; -p = 0,87
Zn (15,0-50,0)	32,57 \pm 4,42 A	26,03 \pm 2,83 A	30,03 \pm 3,12 A	39,23 \pm 6,89 A	F _{3,8} = 1,45; p = 2,30
B (15,0-20,0)	11,00 \pm 0,50 A	6,17 \pm 0,60 A	4,56 \pm 0,44 A	9,93 \pm 4,14 A	F _{3,8} = 2,08; p = 0,18

...Continuação Tabela 5-8

	Avaliação aos 24DAI				
	Dose de fosfito de potássio (L/ha)				
	0	2	4	6	
P (2,3-2,5)	1,17 ± 0,12 B	1,30 ± 0,28 B	1,65 ± 0,05 AB	2,17 ± 0,20 A	F _{3,8} = 5,85; p = 0,02
K (17,5-22,5)	17,63 ± 0,63 A	17,40 ± 2,30 A	21,16 ± 0,40 A	21,73 ± 1,11 A	F _{3,8} = 2,93; p = 0,09
S (1,5-2,0)	0,96 ± 0,01 A	0,89 ± 0,12 A	1,11 ± 0,08 A	1,11 ± 0,06 A	F _{3,8} = 1,90; p = 0,20
Ca (2,5-4,0)	1,71 ± 0,16 A	1,48 ± 0,25 A	1,74 ± 0,10 A	1,72 ± 0,23 A	F _{3,8} = 0,38; p = 0,77
Mg (2,5-4,0)	1,52 ± 0,21 A	1,23 ± 0,19 A	1,53 ± 0,02 A	1,40 ± 0,07 A	F _{3,8} = 0,92; p = 0,47
Fe (50,0-250,0)	50,76 ± 7,90 A	79,60 ± 37,22A	69,03 ± 14,96A	167,63±60,91 A	F _{3,8} = 2,01; p = 0,19
Mn (50-150)	30,26 ± 5,19 A	28,80 ± 7,60 A	33,93 ± 1,93 A	26,90 ± 3,06 A	F _{3,8} = 0,36; p = 0,78
Zn (15,0-50,0)	25,96 ± 5,22 A	24,96 ± 8,17 A	28,03 ± 2,54 A	110,80 ± 73,37A	F _{3,8} = 1,30; p = 0,33
B (15,0-20,0)	5,33 ± 0,50 B	12,19 ± 2,72 A	5,30 ± 0,38 A	6,49 ± 0,38 AB	F _{3,8} = 5,44; p = 0,02

*P, K, S, Ca e Mg dados em g/kg; Fe, Mn, Zn e B dados em mg/kg.

**Teores considerados suficientes por Malavolta et al. (1997)

***Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

Patterson & Alyokhin (2014) avaliaram o efeito da aplicação de fosfito sobre o ataque de *L. decemlineata* em plantas de batata e perceberam que a mortalidade à campo foi maior que a observada em laboratório. Segundo esses autores é possível que maiores efeitos sejam observados à campo devido a interação entre o fosfito e os fungicidas aplicados na parte área. De todo modo, em geral, em ambos os testes realizados pelos autores, foi observado que plantas tratadas com fosfito de potássio foram menos favoráveis ao desenvolvimento de *L. decemlineata*.

Saindrenan et al. (1988) afirmam que o fosfito é um composto que se movimenta pelo floema e que exerce ação moderada no crescimento de fungos em condição de baixa disponibilidade de fosfato. Esses autores e Jackson et al. (2000), também, mencionam que o efeito indireto exercido sobre os patógenos é decorrente do acúmulo de fitoalexinas, compostos fenólicos, etileno, caloses, peróxido de hidrogênio, pectinas e superóxidos após a aplicação, sendo essa uma ação desencadeadora de resistência induzida. Nesse aspecto, Daniel & Guest (2006) sugerem que mais de uma rota metabólica de indução de resistência é acionada devido à aplicação de fosfitos.

Estudos realizados com fosfito demonstram um modo de ação complexo e altamente dependente da concentração aplicada (MASSOUD et al., 2012). Altos níveis de fosfito tem efeito inibitório direto sobre vários organismos (WILKINSON et al., 2001). Neste caso a ação é mais provável de ter ocorrido nos tratamentos de 6 L de fosfito por hectare. Em contraste à esse efeito atribuído à ação direta dos fosfitos sobre as pragas, baixas concentrações são relacionadas ao modo

indireto de ação associado à indução de resistência. A indução de resistência é provável ter ocorrido no tratamento correspondente a dose de 2 L por hectare.

5.4.2 Aplicação tópica de fosfito de potássio

Não houve efeito das doses de fosfito em aplicação tópica sobre a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* de primeiro ($F_{1,2} = 0,14$; $p = 0,74$) e de terceiro instares ($F_{1,2} = 1,02$; $p = 0,42$), sendo observado efeito significativo da aplicação tópica sobre lagartas de segundo instar (Figura 5-1). A mortalidade de lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* foi crescente com o incremento da dose de fosfito de potássio aplicada, sendo máxima no tratamento de 6 L de fosfito por hectare (Figura 5-1).

Saindrenan et al. (1988) observaram que os fosfitos podem agir diretamente sobre os fitopatógenos inibindo o crescimento micelial *in vivo*. Esses compostos podem ainda causar toxicidade direta por ingestão em insetos, a exemplo do que foi constatado em *L. decemlineata*, (PATTERSON & ALYOKHIN, 2014) ou por contato, compatível com o que foi observado nesse estudo.

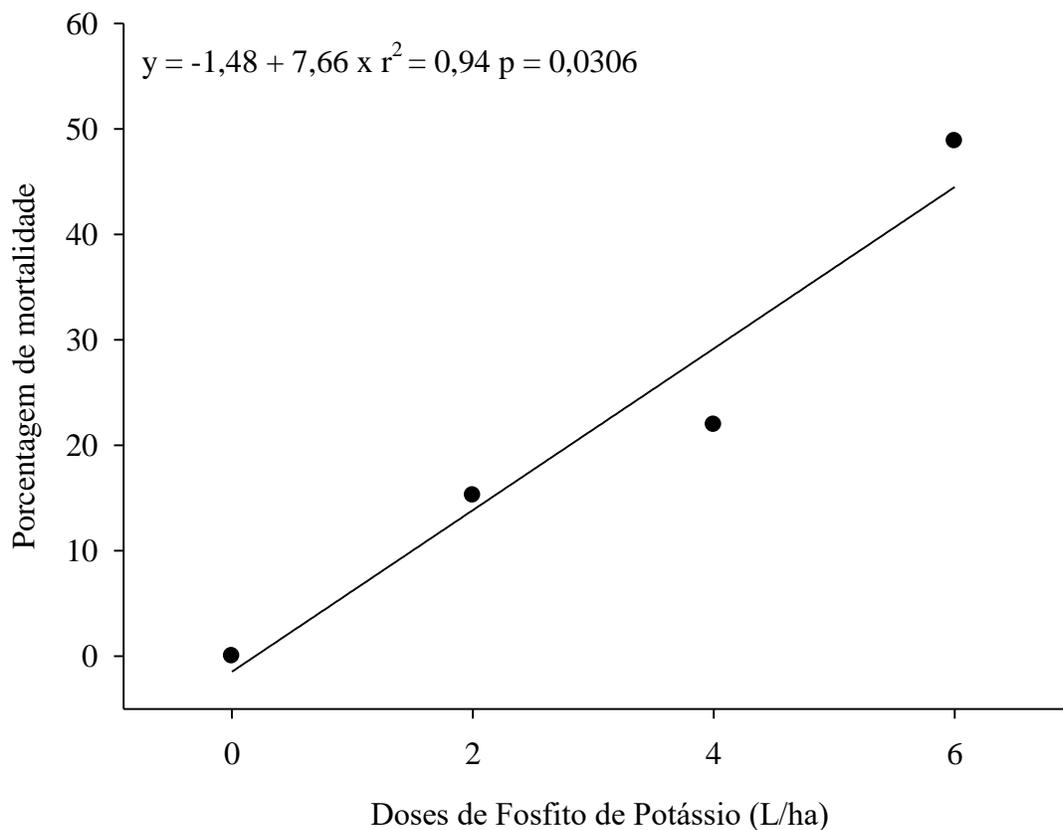


Figura 5-1. Porcentagem de mortalidade de lagartas de segundo. instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas à aplicação tópica de diferentes doses de fosfito de potássio.

5.5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ A razão sexual foi reduzida em todos os tratamentos com aplicação de fosfito de potássio, resultando em aumento da proporção machos:fêmea; todavia, os tratamentos em que esse efeito foi mais pronunciado foram nas doses de 2 e 6 L de fosfito por hectare.
- ✓ A aplicação tópica de doses crescentes de fosfito de potássio aumentou a mortalidade de lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*;

- ✓ A aplicação do fosfito de potássio alterou os teores foliares de fósforo, enxofre, cálcio e boro;
- ✓ Considerando algumas das variáveis analisadas, o tratamento de 2 L de fosfito de potássio por hectare foi o que mais desfavoreceu o inseto. Entretanto, estudos adicionais e mais detalhados acerca da influência do fosfito de potássio sobre essa praga, fazem-se necessários.
- ✓ A alteração nas características biológicas da lagartas não foram suficientemente significativas para tornar o fosfito de potássio um produto competitivo com a maioria dos inseticidas sintéticos registrados para o controle de *S. frugiperda*;
- ✓ Estudos subsequentes devem avaliar o potencial sinérgico desse produto quando usado em associação com inseticidas botânicos ou sintéticos em sub-dosagens para o controle de *S. frugiperda*, a exemplo do que vem sendo praticado para fitopatógenos;
- ✓ Adicionalmente, o acúmulo de compostos indutores de resistência e das várias formas de fósforo em resposta ao tratamento com fosfito de potássio deve ser investigada em estudos posteriores.

5.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, A.J.; BLEE, K.A.; YANG, K.Y. Commercialization of plant systemic defense activation: theory, problems and successes. In: SADIK, T.; BENT, E. (Eds.). **Multigenic and induced systemic resistance in plants**. New York: Springer, p.386-414, 2006.

ARAÚJO, L.; STADNIK, M. J.; BORSATO, L. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, 33:148-152, 2008.

BAO, H.; LIU, S.; GU, J.; WANG, X.; LIANG, X.; LIU, Z.. Sublethal effects of four insecticides on the reproduction and wing formation of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Pest Management Science**, 65: 170–174, 2009.

CAIXETA, A. de O.; VIEIRA, B.S.; CANEDO, E.J. Efeito do fosfito de potássio sobre fungos fitopatogênicos do feijoeiro. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**, 3: 35-43, 2012.

CARVALHO, E. de ARRUDA. **Indutores de resistência no manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrizi* SYDOW & P. SYDOW)**. 2010. 65p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1995, 45p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 21).

DANIEL, R.; GUEST, D. Defense responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 67: 194-201, 2006.

DEWER, Y.; POTTIER, M.A.; LALOUETTE, L.; MARIA, A.; DACHER, M.; BELZUNCES, L.P.; KAIRO, G.; RENAULT, D.; MAIBECHE, M.; SIAUSSAT, D. Behavioral and metabolic effects of sublethal doses of two insecticides, chlorpyrifos and methomyl, in the Egyptian cotton

leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Science and Pollution Research International**, 23:3086-3096, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Manual de métodos de análise de solo**. 2.Ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212p.

FERNANDES, O.D.; PARRA, J.R.P.; NETO, A.F.; PICOLI, R.; BORGATTO, A.F.; DEMÉTRIO, C.G.B.; Efeito do milho geneticamente modificado mon810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 2: 25-35, 2003.

GÓMEZ-MERINO, F. C.; TREJO-TÉLLEZ, L. I. Biostimulant activity of phosphite in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196: 82-90, 2015.

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G.E. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, 49: 147-154, 2000.

LOURENÇÃO, A.L.F.; FERNANDES, M.G. Avaliação do Milho Bt Cry1Ab e Cry1F no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de campo. **Científica**, 41: 164-188, 2013.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Potafos, 1997. 308p.

MASSOUD, K.; BARCHIETTO, T.; LE RUDULIER, T.; PALLANDRE, L.; DIDIERLAURENT, L.; GARMIER, M.; SAINDRENAN, P. Dissecting phosphite-induced priming in *Arabidopsis* infected with *Hyaloperonospora arabidopsidis*. **Plant Physiology**, 159: 286-298, 2012.

PATTERSON, M.; ALYOKHIN, A. Survival and development of Colorado potato beetles on potatoes treated with phosphite. **Crop Protection**, 61: 38-42, 2014.

PEREZ, V.; MAMDOUH, A. M.; HUET, J. C.; PERNOLLET, J. C.; BOMPEIX, G. Enhanced secretion of elicitors by *Phytophthora* fungi exposed to phosphonate. **Cryptogamie Mycologie**; Paris, 16: 191–194, 1995.

PÜNTENER, W. **Manual for field trials in plant protection**. Basel: Ciba-Geigy Limited, 1981. 271p.

RASBAND, W.S. **ImageJ**, U.S. Bethesda: National Institutes of Health, 1997-2015. Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij/>.

SAINDRENAN, P.; BARCHIETTO, T.; AVELINO, J.; BOMPEIX, G. Effects of phosphite on phytoalexin accumulation in leaves of cowpea infected with *Phytophthora cryptogea*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 32: 425-435, 1988.

SANTOS, L.M.D.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G.; EFROM, C.F.S. Larval and pupal stage of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) in sweet and field corn genotypes. **Brazilian Journal of Biology**, 63: 627-633, 2003.

SANTOS, H.A.A. dos. Efeito de fosfito no controle de doenças foliares de trigo *in vitro* e *in situ*. 2008. 143f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

SAS. **The SAS system**. Version 9.00. Cary: SAS Institute, 2002.

SCHROETTER S.; KREUZIG R.; ANGELES-WEDLER D.; SCHNUG E. Effect of phosphite on phosphorus supply and growth of corn (*Zea mays*), **Landbauforschung Völkenrode**, 56: 87-99, 2006.

SHARMA, R.K.; BAJRACHARYA, A.S.R. Measuring susceptibility in maize varieties in free and no choice tests against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.). **Annals of Plant Protection Sciences**, 14: 357-363, 2006.

SHELTON, A. M.; OLMSTEAD, D. L.; BURKNESS, E. C.; HUTCHISON, W. D.; DIVELY, G.; WELTY, C.; SPARKS, A. N. Multi-state trials of Bt sweet corn varieties for control of the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, 106: 2151-2159, 2013.

SILVA, M.T.B. Fatores que afetam a eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* Smith em milho, **Ciência Rural**, 29: 383-387, 1999.

SMILLIE, R.; GRANT, B.R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. **Phytopathology**, 79: 921-926, 1989.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. (Eds.). **Cerrado: correção do solo e adubação**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. 416p.

STORCH, G.; LOECK, A.E.; GRACIA, M.S.; MAGANO, D.A.; LORENZETTI, R.; REMOR, M. Linha básica de suscetibilidade de inseticidas de ação por contato sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizados na cultura do milho. **Revista Brasileira de Agrociências**, 14: 291-297, 2008.

THAO, H. T. B.; YAMAKAWA, T.; MYINT, A. K.; SARR, P. S. Effects of phosphite, a reduced form of phosphate, on the growth and phosphorus nutrition of spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Soil Science and Plant Nutrition**, 54: 761-768, 2008.

TRACY, W.F. Sweet Corn. In: HALLAUER, A.R. (Ed.). **Specialty Corns**. 2. ed. New York: CRC Press, 2001. p. 155-198.

VALICENTE, F. H.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Ocorrência e controle de pragas durante a safrinha de milho no Sudoeste Goiano**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. -4p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 48).

VENTER, E.; MANSOOR, C.V.; SIBISI, P.; BOTHA, A.M. Potassium phosphate induces tolerance against the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Homoptera: Aphididae) in wheat. **Crop Protection**, 61: 43-50, 2014.

VIANA, P.A.; PRATES, H.T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, 62: 69-74, 2003.

WILKINSON, C. J.; HOLMES, J. M.; DELL, B.; TYNAN, K. M.; McCOMB, J. A.; SHEARER, B. L.; HARDY, G. S. J. Effect of phosphite on in planta zoospore production of *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, 50: 587-593, 2001.

CAPÍTULO II

DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE LAGARTAS-DA- ESPIGA

6. DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE LAGARTAS DA ESPIGA

6.1. RESUMO

Helicoverpa armigera (Hübner) e *Helicoverpa. zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) estão entre as mais importantes espécies de lepidópteros-praga no Velho e Novo Mundo, respectivamente. No entanto, apenas em 2013, a introdução de *H. armigera* teve seu primeiro relato no Brasil. O objetivo deste trabalho foi determinar diferenças genéticas entre populações de *H. armigera* e *H. zea* por meio da utilização da técnica de RAPD-PCR. Foram utilizados 16 iniciadores decâmeros que produziram um total de 117 *loci* polimórficos. A partir dos polimorfismos detectados, estimou-se a matriz de dissimilaridade entre as populações através do complemento aritmético do índice de Jaccard. Com base nesta matriz foram realizadas as análises de agrupamento utilizando a técnica de UPGMA e a metodologia de Tocher. De forma complementar foi realizada a análise de componentes principais. Os resultados de todas as análises de agrupamento utilizadas neste estudo foram concordantes em formar três grupos populacionais de *Helicoverpa* spp.: um grupo contendo seis populações de *H. zea* e uma de *H. armigera*, outro formado por duas populações de *H. armigera* e um terceiro composto por duas populações de *H. armigera* e uma de *H. zea*. O agrupamento de uma população de *H. armigera* em um *cluster* de predomínio de *H. zea* e vice versa é um fato importante, pois pode indicar um possível cruzamento interespecífico de *H. armigera* com *H. zea*.

Palavras-chave: *Helicoverpa* spp., Evolução, Manejo Integrado de Pragas

6.2. INTRODUÇÃO

A subfamília Heliothinae (Lepidoptera: Noctuidae) possui 381 espécies descritas, sendo os gêneros *Helicoverpa* e *Heliothis* aqueles que possuem maior importância econômica como pragas agrícolas. Considerando apenas o gênero *Helicoverpa* as principais espécies de importância econômica são *H. armigera* e *H. zea* (POGUE, 2013) que não possuem muitas características morfológicas diferenciadoras e facilmente reconhecíveis (SPECHT et al., 2013).

No Brasil, até o ano de 2013, *H. armigera* era considerada uma praga quarentenária A1, sendo que o primeiro relato desta praga no país foi realizado por Czepak et al. (2013), Specht et al. (2013) e Tay et al. (2013). Este fato pode ser considerado crítico para o agronegócio do Brasil devido às seguintes características deste inseto-praga: a) dispersão a longas distâncias (FARROW, 1984; PEDGLEY, 1985) e em diferentes altitudes (GREGG et al., 1993); b) adaptação a diversos hospedeiros (BEHERE et al., 2013); c) alta fecundidade (SUBRAMANIAN & MOHANKUMAR, 2006); d) resistência a diversos inseticidas (BIRD & DOWNES, 2014); e) resistência a toxinas de *B. thuringiensis* expressas em plantas geneticamente modificadas (NAIR et al. 2013); e; f) possibilidade de cruzamento com *H. zea* (LASTER & SHENG, 1995).

Segundo Behere et al. (2013), estas características atuando isoladamente ou em conjunto, podem alterar a estrutura populacional deste inseto. Além disso, restrições evolutivas relacionadas com a maior adaptação a um determinado hospedeiro podem alterar os padrões de fluxo gênico entre estas populações (ZALUCKI et al, 2012). Inferências sobre a estrutura genética e do fluxo gênico entre populações e subpopulações brasileiras de *H. armigera* podem ser extraídas através do uso de marcadores moleculares (MASTRANGELO et al., 2014).

Neste interim, marcadores moleculares são fragmentos de DNA que podem ser usados para diferenciar um indivíduo do outro, ou seja, todo fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, correspondente a um gene expresso ou não do genoma (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Uma das formas de detecção do polimorfismo no DNA, pode ser encontrada no DNA genômico através da amplificação aleatória governada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) ilustrada através da técnica de RAPD (WILLIAMS et al. 1990). A grande vantagem deste marcador molecular no monitoramento da divergência genética entre populações é a rapidez, a simplicidade, a relação entre o custo-benefício do procedimento (BHAU et al, 2014).

Alguns estudos de diversidade genética do gênero *Helicoverpa* foram conduzidos utilizando marcadores RAPD. Fakrudin et al. (2004), por exemplo, observaram similaridade genética variada entre 12 populações de *H. armigera* coletadas em plantas de algodão na Índia, enquanto que Zhou et al. (2000) observaram alta similaridade genética entre populações coletadas em Israel e na Turquia.

A compreensão da estrutura populacional, do fluxo gênico, bem como da divergência genética entre populações de *Helicoverpa* spp. é de fundamental importância para o desenvolvimento de práticas eficientes no controle desta praga (LEITE et al., 2014). O objetivo deste trabalho foi determinar diferenças genéticas entre populações de *H. armigera* e *H. zea* por meio da utilização da técnica de RAPD-PCR.

6.3. MATERIAL E MÉTODOS

5.6.1 Populações

Foram utilizadas lagartas de *H. armigera* e *H. zea* provenientes das regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste do Brasil (Tabela 6-1). Onze das doze populações foram fornecidas e identificadas pela empresa Pioneer Seeds e a população de HADF3 foi fornecida pela Dra. Silvana Vieira de Paula Morais, sendo a identificação morfológica realizada pelo Dr. Alexandre Specht. De cada população foram recebidos dez indivíduos, no quinto instar larval, em tubos de 25 mL contendo álcool 70%. No total foram estudadas a divergência entre cinco populações de *H. armigera* e sete populações de *H. zea* coletadas entre dezembro de 2013 a janeiro de 2015.

Tabela 6-1. Populações de *H. armigera* (HA) e *H. zea* (HZ), amostradas em diferentes datas de coleta, hospedeiros e localidades.

Amostra	Data de coleta	Hospedeiro	Coordenadas Geográficas	Localização
HABA	24/10/2014	Algodão	11°19'40,1'' S 46°11'16,8'' W	Formosa do Rio Preto – BA
HADF1	11/11/2014	Soja	15°52'07,0'' S 47°24'3,50'' W	Brasília – DF
HASP	04/11/2014	Soja	22°45'40,0'' S 47°09'15,0'' W	Paulínea – SP
HADF2	22/01/2014	Soja	15°43'30,0'' S 47°36'39,0'' W	Brasília - DF
HADF3	17/12/2013	Soja	15°43'11,9'' S 47°35'51,8'' W	Brasília - DF
HZGO1	25/07/2014	Milho	18°20'25,9'' S 49°11'11,03'' W	Itumbiara – GO
HZDF1	13/11/2014	Milho doce	15°57'2,0'' S 47°56'2,0'' W	Brasília – DF
HZDF2	09/01/2014	Milho	15°43'30,0'' S 47°36'39,0'' W	Brasília – DF
HZGO2	01/10/2014	Milho	18°20'27,9'' S 49°11'11,0'' W	Itumbiara – GO
HZGO3	15/10/2014	Milho	17°43'52,0'' S 49°05'58,0'' W	Morrinhos –GO
HZSC	19/01/2015	Milho	26°45'39,5'' S 53°10'21,0'' W	Maravilha – SC
HZPR	06/01/2015	Milho	24°42'45,0'' S 53°44'35,0'' W	Toledo - PR

5.6.2 Extração de DNA

O DNA total das amostras de *H. armigera* e *H. zea* foi extraído através do método de CTAB 2X com algumas modificações (BOITEUX et al., 1999). Cerca de 3 mm da parte posterior das lagartas foi retirada com auxílio de um bisturi e posteriormente macerada em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL de volume, contendo 750 µL de tampão CTAB (2% de CTAB; 100mM

de tris-HCl, pH8,0; 50mM de NaCl e 0,2% de 2-β-mercaptoetanol). A maceração foi realizada em dois ciclos de 30 segundos a 2.000 rpm de agitação (Precellys – Bertin Technologies). Em seguida, os tubos foram deixados à temperatura de 65°C por 10 minutos e depois resfriados por 3 minutos. Na sequência, foi adicionado em cada tubo 750 µL de Clorofil (24 Clorofórmio: 1 Álcool Isoamílico) e agitados vigorosamente com o auxílio de vórtex. Posteriormente, os tubos foram centrifugados por cinco minutos a 9.000 rpm em microcentrífuga. Cerca de 650 µL do sobrenadante foi transferido para um novo tubo e a este foi adicionado 300 µL de isopropanol. Após a agitação lenta dos tubos, os mesmos foram levados a centrífuga a 12.000 rpm, por 15 minutos para precipitação do DNA. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (pellet) lavado duas vezes com 400 µl de etanol refrigerado a 70% de concentração (v/v). Após as lavagens, o sobrenadante foi eliminado e as paredes do tubo submetidas à secagem em BOD a 34°C por 20 minutos. Em seguida o pellet foi suspenso em 100 µL de TE + RNase (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, 8 µl RNase pH 8,0). A solução foi armazenada por 12 horas e posteriormente quantificada em espectrofotômetro Nanodrop (Lite) e diluído com TE + RNase para a proporção de aproximadamente 30 ng de DNA por µL.

5.6.3 Marcadores do tipo RAPD-PCR

Inicialmente, a busca por diferenças genéticas entre as populações foi conduzida utilizando-se uma coleção de 120 pares de oligonucleotídeos iniciadores decâmeros (primers) de sequência arbitrária do tipo *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD-PCR) (kits comerciais OP-A até OP-AF, Operon Technologies Inc., Alameda, Califórnia, EUA), sendo selecionados posteriormente 16 iniciadores (Tabela 6-2), por apresentarem melhor qualidade de bandas amplificadas. Cada reação de PCR-RAPD, foi conduzida em um volume final de 12,5 µL, sendo composta por 2 µL do DNA, 1,25 µL de tampão (10X) de amplificação (Invitrogen), 0,6µL de MgCl₂ (50 mM), 0,2 µL de Taq DNA polimerase (Invitrogen), 0,125 µL de cada deoxinucleosídeo trifosfato (dNTPs), 5,95 µL de água Milli-Q autoclavada e 2 µL de primers. O programa de amplificação constou de 35 ciclos, realizados em um termociclador (GeneAmp® PCR System 9700), nas seguintes condições: desnaturação a 94 °C por 30 s, amplificação a 36 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 1,5 min. Os produtos da reação de RAPD-PCR foram submetidos a uma corrida eletroforética em gel de agarose (1,5%) em tampão TBE 1X. Os géis foram corados com brometo de etídio (10 mg/mL) e fotodocumentados em sistema de vídeo Quantity One® (BioRad).

Em seguida, foram computados todos os amplicons polimórficos passíveis de serem avaliados visualmente.

Tabela 6-2. Relação de iniciadores selecionados, com respectivos nomes comerciais, seqüência de bases nitrogenadas, número de fragmentos polimórficos (NFP), em 12 populações de *H. armigera* e *H. zea*.

Iniciador	Sequencia (5' – 3')	NFP
OPA-02	TGCCGAGCTG	4
OPA-07	GAAACGGGTG	8
OPA-12	TCGGCGATAG	12
OPA-14	TCTGTGCTGG	10
OPA-16	AGCCAGCGAA	6
OPB-01	GTTTCGCTCC	5
OPC-01	TTCGAGCCAG	11
OPC-02	GTGAGGCGTC	7
OPC-04	CCGCATCTAC	5
OPC-05	GATGACCGCC	8
OPC-06	GAACGGACTC	6
OPC-11	AAAGCTGCGG	10
OPC-13	AAGCCTCGTC	10
OPC-20	ACTTCGCCAC	5
OPF-02	GAGGATCCCT	8
OPF-06	GGGAATTCGG	5

5.6.4 Análise da divergência genética

A matriz de dissimilaridade genética das populações de *Helicoverpa* spp. foi gerada a partir do complemento aritmético do índice de Jaccard (1901). Para a análise de agrupamento das populações, foram utilizados o algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Average*) com

a consistência de cada nó do dendrograma testada pelo método de *bootstrap* com 400 ciclos de reamostragem e otimização seguindo as premissas de Tocher (RAO, 1952), ambos baseados nesta matriz. As populações foram ainda agrupadas por análise multivariada de componentes principais. As análises genético-estatísticas foram processadas no programa computacional GENES (CRUZ, 2008).

6.4. RESULTADOS

As amplificações produziram um total de 117 *loci* polimórficos, sendo selecionados os alelos que ocorriam em uma frequência maior ou igual a 75%, dentro das quatro haplotipos por população, conforme sugerido por McMichael & Prowell (1999). A taxa média de polimorfismo por iniciador foi de aproximadamente 7,5 bandas polimórficas, variando de 4 (OPA-02 e OPA-C4) a 12 (OPA-12) bandas polimórficas. Por fim, o tamanho dos fragmentos amplificados variou de 100 a aproximadamente 3.000 pb.

A amplitude das distâncias obtidas através do complemento aritmético do índice de Jaccard foi máxima entre as populações HADF3 e HABA (0,86) enquanto que mínima entre HZGO2 e HZGO3 (0,06) e HZPR e HZSC (0,06). A variabilidade média intrínseca às populações de *H. armigera* e *H. zea* avaliadas neste estudo foi de respectivamente 0,68 e 0,37 (Tabela 6-3). Além disso, o agrupamento das 12 populações de *Helicoverpa* spp. com base nestas medidas de dissimilaridade e realizadas através do método do vizinho mais próximo, resultou na formação de três grupos distintos (Figura 6-1). Neste contexto, o maior agrupamento (Grupo 1) foi composto por todas as populações de *H. zea* avaliadas neste estudo, com exceção de HZGO1, além de uma população de *H. armigera* (HADF1). Também foram formados um grupo intermediário composto por duas populações de *H. zea* (HZGO1 e HZDF3) e uma de *H. armigera* (HADF2); e um grupo menor contendo apenas duas populações de *H. armigera* (HABA e HASP).

Tabela 6-3. Matriz de dissimilaridade genética entre populações de *H. armigera* e *H. zea*, construída a partir do complemento aritmético do índice de Jaccard.

	HABA	HADF1	HASP	HADF2	HADF3	HZGO1	HZDF1	HZDF2	HZGO2	HZGO3	HZSC	HZPR
HABA	0,00											
HADF1	0,61	0,00										
HASP	0,58	0,60	0,00									
HADF2	0,85	0,80	0,68	0,00								
HADF3	0,86	0,81	0,70	0,33	0,00							
HZGO1	0,83	0,79	0,64	0,30	0,35	0,00						
HZDF1	0,62	0,28	0,56	0,71	0,73	0,73	0,00					
HZDF2	0,66	0,30	0,59	0,82	0,83	0,79	0,27	0,00				
HZGO2	0,62	0,21	0,59	0,80	0,82	0,80	0,21	0,17	0,00			
HZGO3	0,62	0,26	0,61	0,82	0,84	0,84	0,21	0,20	0,06	0,00		
HZSC	0,62	0,20	0,59	0,79	0,81	0,79	0,20	0,19	0,10	0,10	0,00	
HZPR	0,62	0,23	0,61	0,78	0,80	0,78	0,25	0,24	0,15	0,16	0,06	0,00

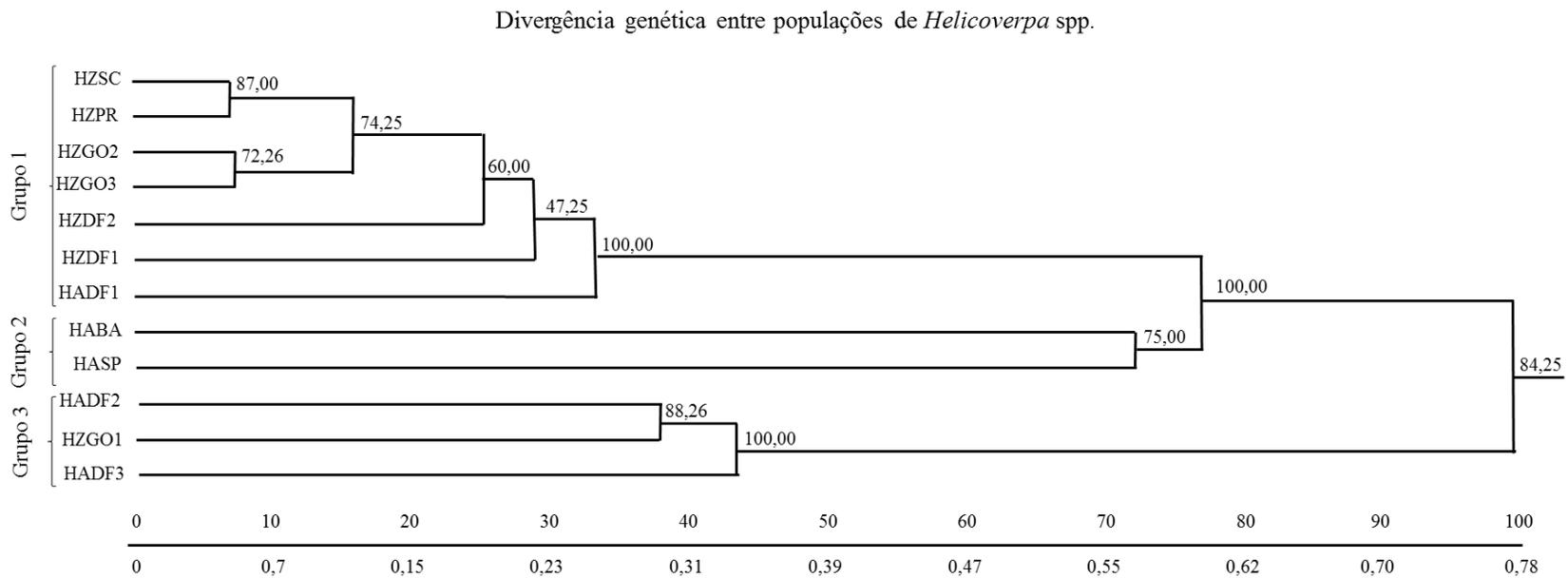


Figura 6-1. Divergência genética entre populações de *Helicoverpa armigera* (Hübner) e *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes locais e culturas cultivadas no Brasil, obtida a partir do índice de dissimilaridade de Jaccard. Valores de bootstrap (porcentagem para 400 reamostragens) são indicados em cada ramo.

Com relação ao agrupamento baseado no método de Tocher, pode-se observar na Tabela 6-4, a partição das 12 populações de *Helicoverpa* spp. em três grupos. O grupo 1 foi formado por todas as populações de *H. zea* estudadas, com exceção de HZGO1, além da população HADF1. O grupo 2 foi composto por duas populações de *H. armigera* e a supracitada população de *H. zea*, enquanto que o agrupamento 3, por sua vez, conteve duas populações de *H. armigera*. Os grupos 1, 2 e 3 englobaram respectivamente 58%, 25%, e 17% do total de populações de *Helicoverpa* spp. utilizadas neste estudo. Além disso, com base nas distâncias médias intra e intergrupos (Tabela 6-4), pode-se inferir que os grupos com maior distância entre si foram 1 e 2 (16,67). Por outro lado, o agrupamento 3 demonstrou a menor variabilidade intrínseca expressando a menor distância intragrupo (0,58).

Tabela 6-4. Distância média intra e intergrupos de 12 populações de *H. armigera* e *H. zea* pelo método de otimização de Tocher, baseada no coeficiente de dissimilaridade de Jaccard, utilizando 138 bandas polimórficas.

GRUPOS	1 (HZSC, HZPR, HZGO2, HZGO3, HZDF2, HZDF1 e HADF1)	2 (HADF2, HZGO1 e HADF3)	3 (HABA e HASP)
1 (HZSC, HZPR, HZGO2, HZGO3, HZDF2, HZDF1 e HADF1)	4,04	16,67	8,51
2 (HADF2, HZGO1 e HADF3)	--	0,98	4,55
3 (HABA e HASP)	--	--	0,58

Conforme observado na Figura 6-2, os dois primeiros componentes principais explicaram aproximadamente 70% da variação total. Desta forma, conforme critério adotado por Cruz & Regazzi (1994), pôde ser realizado o estudo da dissimilaridade genética no espaço bidimensional, com desprezível grau de distorção. Por meio da análise visual da dispersão gráfica no espaço bidimensional (Figura 6-2), pode-se observar a divisão das populações de *Helicoverpa* spp. em três grupos, análogos àqueles formados pelas metodologias de UPGMA e Tocher.

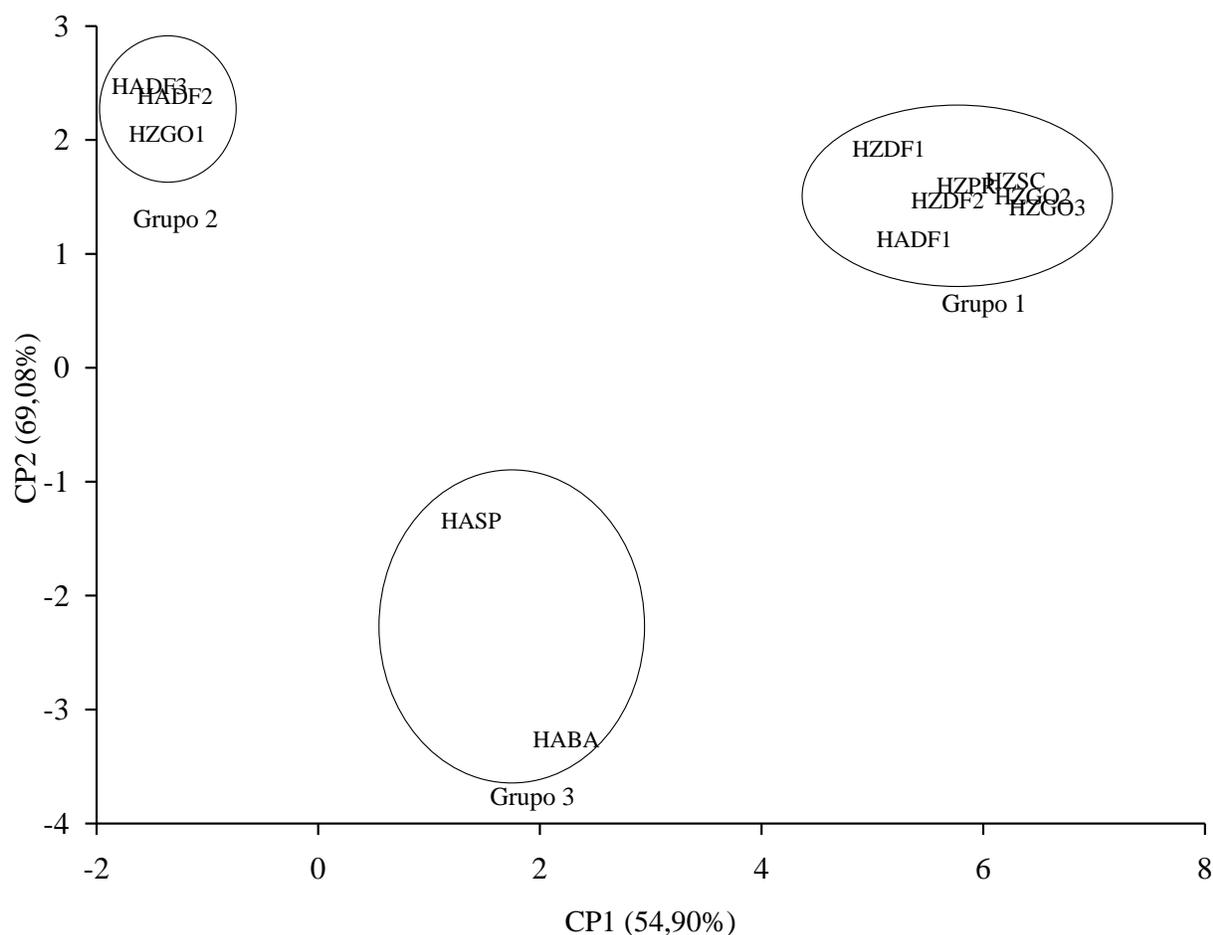


Figura 6-2. Representação bidimensional da análise de coordenadas principais de 12 populações de *H. armigera* e *H. zea*, baseada na distância genética calculada com dados de marcadores RAPD. Números em parêntesis, localizados no eixo X e Y, indicam porcentagem da variância acumulada dos autovalores.

6.5. DISCUSSÃO

A maior dissimilaridade observada entre as populações HADF3 e HABA, ou seja, entre duas populações de *H. armigera*, aparentemente não possui relação com as distâncias geográficas uma vez que esta espécie possui amplo espectro de dispersão. Conforme Nibouche et al. (1998) esta espécie pode migrar a distâncias superiores a 2.000 km, valor este superior aos aproximados 700 km entre as localidades supracitadas. Outra possibilidade seria uma diferenciação genética

entre estas populações baseada no hospedeiro, uma vez que os indivíduos de HABA foram coletados em algodão e HADF3 em soja. Esta possibilidade é discutida por Jallow et al. (2004) e Subramanian & Mohankumar (2006) e Behere et al. (2013). Além disso, segundo Behere et al. (2013) esta subestruturação populacional de *H. armigera* proveniente de lavoura de algodão pode estar relacionada à intensa pressão de seleção promovida pela massiva aplicação de inseticidas e a diferentes compostos secundários (tais como gossipol), à exposição às toxinas *Bt* advindas do algodão transgênico e a possibilidade do hospedeiro suportar várias gerações consecutivas do inseto.

De uma forma geral, as populações de *H. zea* avaliadas neste estudo, com exceção de HZGO1, foram agrupadas em um único *cluster*. Neste ínterim, Mallet et al. (1993) e Han & Caprio (2002) através de polimorfismos em aloenzimas, observaram pequena variabilidade genética entre populações de *H. zea*. Estes autores, além de Behere et al. (2007) salientam que esta baixa variabilidade genética está relacionada com a entrada desta espécie no continente americano. Neste contexto, a hipótese mais aceita consiste que *H. zea* foi originada a partir de uma pequena amostra populacional de *H. armigera* ou de seu ancestral comum.

Com referência às populações de *H. armigera*, observou-se a formação de dois *clusters* distintos, com o agrupamento de populações distantes geograficamente (HABA e HASP) e separação de populações com proximidade entre locais de coleta. Conforme discutido anteriormente, *H. armigera* possui ampla capacidade de dispersão e adaptação a múltiplos hospedeiros fatores estes que facilitam a ocorrência de fluxo gênico, diminuindo assim a divergência genética entre estas populações (ZHOU et al., 2000). Além disso, a formação de dois *clusters* entre as populações estudadas é concordante com as informações aventadas por Tay et al. (2013) e Leite et al. (2014). Neste contexto, estes autores observaram que as populações de *H. armigera* avaliadas foram provavelmente originárias de pelo menos duas linhagens maternas, sendo estas, por sua vez, oriundas de múltiplas invasões ou uma invasão composta por diversos genótipos desta espécie.

Um fato intrigante foi observado no agrupamento da população de *H. armigera* (HADF1) e de *H. zea* (HZGO1), indicando uma possibilidade de cruzamento interespecífico. Conforme observado por Laster & Hardee (1995) e Laster & Sheng (1995), não obstante o longo período de especiação entre *H. armigera* e *H. zea*, estas duas espécies são capazes de acasalar e gerar descendentes férteis em condições de laboratório. Este fato seria um complicador para o manejo

integrado desta “espécie híbrida”, devido a possibilidade de vigor híbrido associado a heterose (TAY et al., 2013, LEITE et al., 2014 e MASTRANGELO et al., 2014). Neste caso, a manifestação da heterose poderia ser expressa através de uma adaptação maior a diferentes hospedeiros, resistência a diversos inseticidas e a toxinas de *Bt*. De qualquer forma, estudos posteriores que visem elucidar esta possibilidade devem ser realizados.

6.6. CONCLUSÕES

As populações de *H. zea* avaliadas neste trabalho são agrupadas em um *cluster* exibindo também baixa variabilidade intrínseca. Por sua vez, são observados dois agrupamentos nas populações de *H. armigera*. A existência dos *outliers* HADF1 e HZGO1 pode indicar uma possibilidade de cruzamento interespecífico.

6.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEHERE, G.T.; TAY W.T.; RUSSELL D. A.; HECKEL D. G.; APPLETON B. R. Mitochondrial DNA analysis of field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and of its relationship to *H. zea*. **BMC Evol Biol**, 7:117, 2007.

BEHERE, G.T.; TAY, W.T.; RUSSELL, D.A.; KRANTHI, K.R.; BATTERHAM, P. Population genetic structure of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as inferred from EPIC-PCR DNA markers. **Plos One**, 8, e53448, 2013.

BHAU, B.S.; MECH, J.; BORTHAKUR, S.; BHUYAN, M.; BHATTACHARYYA, P.R. Morphological and genetic diversity studies among populations of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* from Assam, India. **Molecular Biology Reports**, 41, 7845-7856, 2014.

BIRD, L.J.; DOWNES, S.J. Toxicity and Cross-Resistance of Insecticides to Cry2Ab- Resistant and Cry2Ab-Susceptible *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, 107: 1923-1930, 2014.

BOITEUX L.S.; FONSECA M.E.N.; SIMON P.W. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 124: 32-38, 1999.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Diversidade Genética**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2008. v. 1. 278 p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa : UFV, 1994. 390p.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 43: 110-113, 2013.

FAKRUDIN, B.; PRAKASH, S. H.; KRISHNAREDDY, K. B.; VIJAYKUMAR, BADARI PRASAD, P. R.; PATIL, B. V.; KURUVINASHETTI, M. S. Genetic variation of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner)(Lepidoptera: Noctuidae) of South Indian cotton ecosystem using RAPD markers. **Current Science**, 87: 1654-1659, 2004.

FARROW, R.A. Detection of transoceanic migration of insects to a remote island in the Coral Sea, Willis Island. **Australian Journal of Ecology**, 9, 253-272, 1984.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220p.

GREGG, P.C.; FITT, G.P.; COOMBS, M.; HENDERSON, G.S. Migrating moths (Lepidoptera) collected in tower-mounted light traps in northern New South Wales, Australia: species composition and seasonal abundance. **Bulletin of Entomological Research**, 83, 563-578, 1993.

HAN, Q. I. F. A.; CAPRIO, M. A. Temporal and spatial patterns of allelic frequencies in cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental entomology**, 31: 462-468, 2002.

JACCARD, P. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. **Bulletin de la Société Voudoise de las Sciences Natureller**, 37: 547-579, 1901.

JALLOW, M.F.A.; CUNNINGHAM, J.P.; ZALUCKI, M.P. Intra-specific variation for host plant use in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): Implications for management. **Crop Protection**, 23: 955-964, 2004.

LASTER M.L.; SHENG, C.F. Search for hybrid sterility for *Helicoverpa zea* in crosses between the north american *H. zea* and *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. **Journal of Economic Entomology**: 88, 1288–1291, 1995.

LASTER, M. L.; HARDEE, D. D. Intermating compatibility between north American *Helicoverpa zea* and *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Russia. **Journal of Economic Entomology**, 88: 77-80, 1995.

LEITE, N. A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A. S.; ZUCCHI, M. I.; OMOTO, C. Demographics and Genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **PloS one**, 9: e113286, 2014.

MALLET, J.; KORMAN, A.; HECKEL, D. G.; KING, P. Biochemical genetics of *Heliothis* and *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) and evidence for a founder event in *Helicoverpa zea*. **Annals of the Entomological Society of America**, 86: 189-197, 1993.

MASTRANGELO, T.; PAULO, D.F.; BERGAMO, L.W.; MORAIS, E.G.F.; SILVA, M.; BEZERRA-SILVA, G.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Detection and genetic diversity of a Heliothine invader (Lepidoptera: Noctuidae) from North and Northeast of Brazil. **Journal of Economic Entomology**, 107, 970-980, 2014.

McMICHAEL, M.; PROWELL, D.P. Differences in amplified fragment-length polymorphisms in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host strains. **Annals of the Entomological Society of America**, 92: 175-181, 1999.

NAIR, R.; KALIA, V.; AGGARWAL, K.K.; GUJAR, G.T. Variation in the cadherin gene sequence of Cry1Ac susceptible and resistant *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and the identification of mutant alleles in resistant strains. **Current Science**, 104: 215-223, 2013.

NIBOUCHE, S.; BUES, R.; TOUBON, J.F.; POITOUT, S. Allozyme polymorphism in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): comparison of African and European populations. **Heredity**, 80: 438–445, 1998.

PEDGLEY, D.E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, 36: 15-20, 1985.

POGUE, M.G. Revised status of Chloridea (Duncan and Westwood), 1841, for the *Heliothis virescens* species group (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) based on morphology and three genes. **Systematic Entomology**, 38, 523–542, 2013.

RAO, C.R. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley, 1952. 390p.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V. D.; YANO, S. A. C. Morphological and molecular identification of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and expansion of its occurrence record in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: 48, 689-692, 2013.

SUBRAMANIAN, S.; MOHANKUMAR, S. Genetic variability of the bollworm, *Helicoverpa armigera*, occurring on different host plants. **Journal of Insect Science**, 6: 1-8, 2006.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PLoS One**, 8: e80134, 2013.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, 18: 6531–6535, 1990.

ZALUCKI, M.P.; CUNNINGHAM, J.P.; DOWNES, S.; WARD, P.; LANGE, C.; MEISSLE, M.; ZALUCKI, J.M. No evidence for change in oviposition behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) after widespread adoption of transgenic insecticidal cotton. **Bulletin of Entomological Research**, 102: 468-476, 2012.

ZHOU, X.; FAKTOR, O.; APPLEBAUM, S.W.; COLL, M. Population structure of the pestiferous moth *Helicoverpa armigera* in the Eastern Mediterranean using RAPD analysis. **Heredity**, 85: 251-256, 2000.