

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Efeitos da inter-relação entre a presença de visitantes florais e a  
produção na cultura da soja

FABIOLA DE OLIVEIRA

DOURADOS/MS  
Maio/2016

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

FABIOLA DE OLIVEIRA

Efeitos da inter-relação entre a presença de visitantes florais e a produção  
na cultura da soja

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
da Grande Dourados (UFGD), como parte dos  
requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E  
CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.  
Área de Concentração: Biodiversidade e  
Conservação

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Dourados-MS  
Maio/2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

O48 Oliveira, Fabiola de

Efeitos da inter-relação entre a presença de visitantes florais e a produção na cultura da soja / Fabiola de Oliveira -- Dourados: UFGD, 2016.

45f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Marcos Gino Fernandes

Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Glycine max. 2. polinizadores. 3. organismos não alvos. I. Título.

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

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

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Efeitos da inter-relação entre a presença de visitantes florais e a produção  
na cultura da soja

FABIOLA DE OLIVEIRA  
Bióloga/Licenciada

Orientador: PROF. DR. MARCOS GINO FERNANDES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

Área de concentração: Biodiversidade e Conservação.

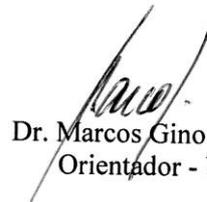
Dourados-MS  
Maio/2016

**"EFEITOS DA INTER-RELAÇÃO ENTRE A PRESENÇA DE VISITANTES FLORAIS E  
A PRODUÇÃO NA CULTURA DA SOJA"**

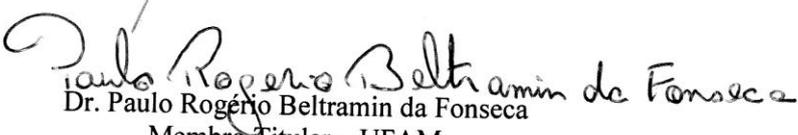
Por

**FABIOLA DE OLIVEIRA**

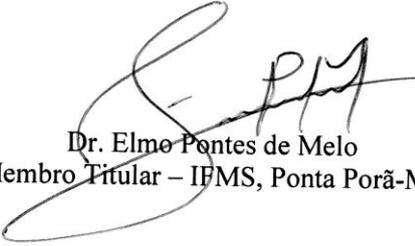
Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),  
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
**MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**  
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Dr. Marcos Gino Fernandes  
Orientador - UFGD



Dr. Paulo Rogério Beltramin da Fonseca  
Membro Titular – UFAM



Dr. Elmo Pontes de Melo  
Membro Titular – IFMS, Ponta Porã-MS

Aprovada em: 24 de março de 2016.

## Biografia da Acadêmica

Fabíola de Oliveira, natural de Ilha Solteira-SP, nascida dia 15 de junho de 1992, filha de Edna de Fatima Bettinardi e Carlos Alberto de Oliveira, cursou o ensino fundamental na Escola Estadual Léa Silva Moraes-SP, período de 2002 a 2005; cursou o ensino médio na Escola Estadual Urubupunga-SP, no período de 2007 a 2009. Bióloga licenciada formada pela Universidade Federal da Grande Dourados-MS, iniciou o curso no ano de 2010, concluindo o mesmo no ano de 2013, sendo bolsista do CNPq de iniciação científica de agosto de 2011 a julho de 2012. Em 2014 ingressou como aluna de mestrado no Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, como bolsista da Capes.

## Agradecimentos

A Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pela oportunidade concedida de realização do mestrado.

À Capes- Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa que tornou possível a realização deste curso.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pelos ensinamentos acadêmicos.

Ao Orientador Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes pelos ensinamentos, orientação e principalmente pela confiança em mim depositada para realização desse trabalho.

Aos alunos de Iniciação Científica Núbio Geraldo Gonçalves Moreira e Pedro Henrique Amaro Martins pelo auxílio com os trabalhos de campo e laboratório.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade por colaborarem com minha formação, especialmente Rhainer Guillermo Nascimento Ferreira, Valter Vieira Alves Júnior, Manoel Araécio Uchôa-Fernandes, Adelita Linzmeier, Rosilda Mara Mussury.

Aos colegas dos Programas de Entomologia e Conservação da Biodiversidade Laise Barbosa Aquino, Evandro Gauer e Fabricio Valente Igllesia pelo agradável convívio durante os anos de mestrado.

## SUMÁRIO

## PÁGINA

Resumo Geral.....	1
Introdução Geral.....	3
Referências.....	5
<b>CAPÍTULO 1. A Toxina Bt Cry1Ac Interfere na Dinâmica Populacional de Insetos Visitantes Florais na Cultura da Soja? .....</b>	<b>7</b>
Resumo .....	7
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	9
Resultados.....	10
Discussão.....	19
Referências.....	20
<b>CAPÍTULO 2. Utilização de <i>Apis mellifera</i> L. e visitantes florais nativos para o aumento da produção de soja.....</b>	<b>23</b>
Resumo.....	23
Introdução.....	24
Material e Métodos.....	26
Resultados .....	27
Discussão.....	30
Referências.....	32

## Resumo Geral

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é de grande importância no mercado mundial, sendo uma das principais *commodities* agrícolas do Brasil, o qual ocupa o segundo lugar no ranking mundial de produção. O cultivo da soja tem ocorrência de muitas espécies de artrópodes que, frequentemente, ocasionam a redução na produtividade das lavouras, ou redução da qualidade das sementes e grãos e demandam a aplicação de inseticidas químicos. É preocupante os efeitos nocivos que os produtos inseticidas podem causar na polinização realizada por agentes entomófilos, o que, atualmente, vem sendo considerado essencial para a produção da cultura. Visando reduzir os efeitos danosos sobre insetos polinizadores, vem sendo motivada a restrição legal do uso de inseticidas nessa cultura. A utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes às pragas vem sendo bastante adotada pelos agricultores; essas plantas possuem um ou mais genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae) que codificam toxinas letais para determinados grupos de insetos. Existem preocupações sobre os desconhecidos efeitos associados a essa tecnologia em relação aos organismos não alvos, incluindo os visitantes florais. O objetivo desse trabalho foi o de investigar a composição e a diversidade de espécies de insetos visitantes florais e sua dinâmica populacional, avaliando seus benefícios para a produção da cultura de soja nas cultivares Bt e não Bt. Foram realizadas as coletas dos insetos visitantes florais durante todo o período de estágio reprodutivo da cultura. As amostragens foram de forma ativa com rede entomológica durante 15 minutos a cada hora, em total de 12 horas no período diurno, sendo feita uma amostragem a cada três ou quatro dias de intervalo. Também foi avaliado o efeito da presença desses visitantes florais sobre a produtividade da cultura. Para tanto, em cada cultivar no período de florescimento foram aleatoriamente escolhidas 150 plantas que compuseram 50 repetições (três plantas por repetição), nas quais foram colocadas gaiolas em 25 repetições para impedir a presença dos insetos visitantes florais. Foram coletados 549 espécimes de insetos visitantes florais, divididos em 30 famílias e 92 espécies. Desse total, 279 (50,81%) estavam presentes na cultivar Bt e 270 (49,18%) na cultivar não Bt. As espécies mais abundantes foram *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) (35,15%), *Musca* sp.1 (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) (10,01%) e *Lagria villosa* (Fabricius, 1783) (Coleoptera: Tenebrionidae) (5,28%), sendo a composição das espécies muito parecida entre as duas cultivares, mas, nos testes de Shannon-Wiener e

Simpson, apresentou maior diversidade a cultivar não Bt ( $H=1,30280$ ;  $D=0,86471$ ) quando comparada com a cultivar Bt ( $H=1,22871$ ;  $D=0,84557$ ). Houve diferenças no número de espécies amostradas nas quatro avaliações realizadas. Na terceira avaliação ocorreu o maior número de espécies, enquanto a segunda avaliação participou com o menor valor de espécies coletadas. Isso, provavelmente, é explicado pela maior oferta de recursos florais para os visitantes ocorrido na terceira avaliação. Os horários com a maior riqueza de espécies foi entre às 8h00min e 11h00min, sendo esse período de maior produção de recursos para os visitantes florais. Quando observada a dinâmica populacional de *A. mellifera*, essa espécie apresentou maior ocorrência nos horários entre as 10h00min e 14h00min. Com relação ao serviço de polinização realizado pelos insetos polinizadores, houve um incremento no peso de grãos da ordem de 84,22% na área aberta com presença livre dos visitantes florais na produção da cultivar Intacta, e 202,52% na cultivar não Bt. Também foi considerável o aumento no número de vagens, pois na cultivar Bt esse aumento foi da ordem de 45,72% na área aberta aos visitantes florais, e da ordem de 101,25% na cultivar não Bt, mostrando o importante papel dos visitantes florais para produção dessa cultura, mesmo a soja sendo uma cultura com elevado índice de autopolinização. Em ambas as cultivares houve maior produção de grãos e vagens nos terços superiores e médios, correspondendo a mais de 80% da produção da planta nessas partes das plantas, essa proporção é devido a maior produção de estruturas reprodutivas nesses locais. Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram uma grande diversidade de insetos visitantes florais na cultura da soja, independente se a cultivar é transgênica com resistência a insetos, ou não. Também fica evidente que a presença desses insetos, quando em elevada abundância, ocasiona um significativo aumento na produção da cultura.

Palavras-chave: *Glycine max*, polinizadores, organismos não alvos.

## Introdução Geral

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é de grande importância no mercado mundial, sendo uma das principais *commodities* agrícolas do Brasil, ocupando o segundo lugar no ranking mundial de produção e tem aumentado significativamente a área cultivada com essa leguminosa (Agrianual, 2015; Embrapa, 2015). No entanto, diversas espécies de artrópodes causam danos à cultura da soja, reduzindo a produtividade das lavouras e a qualidade dos grãos (Sosa-Gomés et al., 2006).

A aplicação abundante de pesticidas normalmente ocorre para controle de pragas e pode resultar em efeitos adversos sobre organismos benéficos, resíduos de pesticidas em alimentos e poluição ambiental. Apesar dos benefícios para a agricultura ocorridos devido ao uso de pesticidas para evitar perdas associadas ao ataque de insetos, há necessidade de desenvolver alternativas ou tecnologias adicionais que permitam o uso racional dos pesticidas, e fornecer a proteção adequada para produção de alimentos, ração e fibra de forma sustentável (Sharma et al., 2000).

Novas variedades geneticamente modificadas (GM) de muitas espécies vegetais são produzidas para expressar a toxina proveniente da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae). Através das técnicas de DNA recombinante, o gene dessa bactéria é inserido no genoma da planta que passa a produzir proteínas Cry 1Ac, além de outras proteínas na cultura da soja. Após o inseto ingerir a proteína Cry é provocada uma ruptura osmótica das células epiteliais do seu tubo digestivo, determinando sua morte antes mesmo que consigam causar danos à cultura (Hofte & Whitely, 1989; Sankula, 2006; Andow, 2008). Genes de bactérias tais como *B. thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* (Bacillales: Bacillaceae) têm sido o grupo mais bem sucedido de organismos identificados para utilização em transformação genética de plantas para controlar pragas em escala comercial (Charles et al., 1996; Hilder & Boulter, 1999).

No Brasil, as tecnologias combinadas para soja geneticamente modificadas, MON 87701 conferindo resistência a lepidópteros e tolerância a glifosato, e MON 89788 que confere tolerância a glifosato, tiveram sua liberação comercial em agosto de 2010 (CTNBio, 2010). A tecnologia denominada comercialmente de Intacta RR2 PRO, contendo o evento MON 87701, confere resistência às principais lagartas desfolhadoras da cultura como a lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857)

(Lepidoptera: Noctuidae), *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) e a broca das axilas *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidae). Esses insetos são, portanto, considerados pragas-alvo desse evento da tecnologia Bt, sendo dispensada a aplicação de inseticidas. Permanece a necessidade de monitoramento e controle para percevejos e demais lagartas que não são pragas alvo dessa tecnologia (Monsanto, 2011).

Dentre os vários agentes polinizadores que podem ocorrer nesta cultura, destacam-se os insetos por serem abundantes na natureza e ajustarem-se perfeitamente às diferentes estruturas florais (Free, 1993). Dentre os insetos conhecidos como eficientes polinizadores, destaca-se *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae), responsável por 80% da polinização entomófila de diversas culturas (McGregor, 1976). Estudos comprovam o efeito positivo da polinização por *A. mellifera* na produtividade em soja da cultivar IAC 14 (Moreti, 1998) e da cultivar BRS Carnaúba (Milfont et al., 2013), quando comparam áreas com livre visitação de abelhas e áreas protegidas da presença desses visitantes florais.

A polinização é considerada, atualmente, um fator de produção fundamental na condução de muitas culturas agrícolas em todo mundo. Além do aumento no número de vagens ou frutos produzidos, a polinização, quando bem conduzida, também contribui para aumento no número de grãos por vagem, aumento no número de vagens, melhora a qualidade dos frutos e diminui os índices de malformação, aumenta o teor de óleos e outras substâncias extraídas dos frutos, encurta o ciclo de certas culturas agrícolas e, ainda, uniformiza o amadurecimento dos frutos, diminuindo as perdas na colheita (Free, 1993; McGregor, 1976; Williams et al., 1991; Freitas, 1997; Nogueira-Couto, 1994 e 1998).

É citado na literatura científica aumento de até 58,58% no número de vagens, 82,31% no número de sementes, 57,73% na produção de sementes e de 61,38% na quantidade de vagens, na cultura da soja (Chiari et al., 2005) quando se compararam plantas com livre visitação de insetos em relação aos tratamentos em que não foram permitida a polinização cruzada. O número de flores não polinizadas na cultura da soja pode ser bastante elevada. Em algumas cultivares dessa cultura, mais de 75% das flores produzidas não desenvolveram sementes (Free, 1993), em virtude de deficiente polinização entomófila.

O abortamento das flores de soja pode atingir até 80%, dependendo da cultivar e das condições ambientais (Carlson, 1973; Justiniano et al., 2014). Na cultivar BRS 133,

por exemplo, encontrou-se média de 53,31 e 82,90% de aborto nas flores em tratamentos que abelhas *A. mellifera* estavam presentes e ausentes, respectivamente (Chiari, 2005).

O presente trabalho teve o objetivo de investigar a composição, diversidade e dinâmica populacional de espécies de insetos visitantes florais da cultura da soja, avaliando seus benefícios para a produção dos grãos de soja nas cultivares BMX Potência e DM 6563 Intacta.

## Referências

- AGRIANUAL. 2009. Agriannual: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: IFNP, ed. 12. 516p.
- ANDOW D. 2008. The risk of resistance evolution in insects of transgenic insecticidal crops. Collection of Biosafety Reviews, v.4, p.142-199.
- CARLSON JB. 1973. Morphology. In: CALDWELL BE. Soybeans: improvement, production and uses. Madison: American Society of Agronomy. p. 17-95.
- CHARLES JF, NIELSEN-LEROUX C, DELECLUSE A. 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: Molecular biology and mode of action. Annual Review of Entomology, v. 41, p.451-472.
- CHIARI WC, TOLEDO VDAAD, RUVOLO-TAKASUSUKI MCC, OLIVEIRA AJBD, SAKAGUTI ES, ATENCIA VM, COSTA FM, MITSUI MH. 2005. Pollination of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill by honeybees (*Apis mellifera* L.). Brazilian Archives of Biology Technology, v. 48, p.31–36
- CHIARI W C. 2005. Floral biology and behavior of Africanized honeybees *Apis mellifera* in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Braz. Arch. Biol. Technol., Curitiba, v. 48, n. 3, p. 367-378.
- CTNBIO. 2010. Comissão Técnica Nacional De Biossegurança. Liberação comercial de soja MON 87701 x MON 89788, que confere resistência a insetos e tolerância a herbicida, bem como todas as progênies dela provenientes, concluiu pelo DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico n. 2.542/2010. Brasília.
- EMBRAPA. 2015. Soja em números, safra 2014/1015. Comunicado Técnico. Embrapa-Soja, Londrina. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em 12 jan. 2016.
- FREE JB. 1993. Insect pollination of crops. University Press, Cardiff, ed. 2.

- FREITAS BM. 1997. Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v. 57, n. 2, p. 289-294.
- HILDER V A, BOULTER D. 1999. Genetic engineering of crop plants for insect resistance a critical review. *Crop Protection*. v. 18, p.177-191.
- JUSTINIANO W, FERNANDES MG, VIANA CLTP, FONSECA PRB. 2014. Intacta RR2PRO (MON87701 x MON89788) for Management of the Main Target and Non-Target Insects in Soybeans. *Journal of Agricultural Science*, v.6, p. 33-44.
- HOFTE H, WHITELEY HR. 1989. Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews*. v. 53, n 2, p.242-255.
- MCGREGOR SE. 1976. Insect pollination of cultivated crop-plants. U.S.D.A. *Agriculture Handbook*, v. 496, p. 93–98. Version with some updated information for some crop species available: <http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/>.
- MILFONT MO, ROCHA EEM, LIMA AON, FREITAS BM. 2013. Higher soybean production using honeybee and wild polinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental Chem Letters*, 11:335-341.
- MORETI ACCC. 1998. Observações sobre a polinização entomófila da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Boletim da Industria Animal*, Nova Odessa, 55:91-94.
- MONSANTO. 2012. Intacta RR2 PRO. Disponível em <<http://www.intactarr2pro.com.br/Default.aspx>>. Acesso em Janeiro de 2016.
- NOGUEIRA-COUTO RH. 1994. Polinização com abelhas africanizadas. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 1., 1994, Ribeirão Preto. *Anais. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia Ciências e Letras*. p. 101-117.
- NOGUEIRA-COUTO RH. 1998. Manejo das colméias de abelhas africanizadas para polinização. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12., 1998, Salvador. *Anais. Salvador: Confederação Brasileira de Apicultura*. p. 129-134.
- SANKULA S. 2006. Crop Biotechnology in the United States: Experiences and impact. In: Halford, N. G. *Plant Biotechnology*. John Wiley & Sons Ltda, p.29-52.
- SHARMA HC, SHARMA KK, SEETHARAMA N, ORTIZ R. 2000. Prospects for using transgenic resistance to insects in crop improvement. *Electronic Journal of Biotechnology*, n. 3, v. 2, p.1-26.
- SOSA-GÓMEZ DR, CORRÊA-FERREIRA BS, HOFFMANN-CAMPO CB, CORSO IC, OLIVEIRA LJ, MOSCARDI F. 2006. Manual de identificação de insetos e

outros invertebrados da cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja, p.66. (Embrapa Soja, Circular Técnica, 30).

WILLIAMS IH. 1991. Beekeeping, wild bees and pollination in the European community. Bee World, Cardiff, v. 72, p. 170-180.

## Capítulo 1

### A Toxina Bt Cry1Ac Interfere na Composição e Dinâmica Populacional de Insetos Visitantes Florais na Cultura Da Soja?

\* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico African Journal of Biotechnology, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

Oliveira, F.<sup>1</sup>, Fernandes, M. G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil.

#### RESUMO

Existem preocupações sobre os desconhecidos efeitos associados a tecnologia de utilização de plantas geneticamente modificadas sobre os organismos não alvos, incluindo os visitantes florais. O objetivo desse trabalho foi determinar as características da dinâmica populacional das espécies de insetos visitantes florais em duas cultivares de soja Bt e não Bt. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da UFGD, localizada na cidade de Dourados/MS. As coletas de insetos visitantes florais foram realizadas no estádio reprodutivo de forma ativa durante 15 minutos a cada hora, em total de 12 horas no período diurno, sendo feita uma amostragem a cada três a quatro dias. Foram coletados 549 espécimes de insetos visitantes florais, divididos em oito ordens, 30 famílias e 92 espécies da classe Insecta. Desse total de insetos coletados, 279 estavam presentes na cultivar Bt e 270 na cultivar não Bt. As espécies mais abundantes foram *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (35,15%), *Musca* sp.1 (Linnaeus, 1758) (10,01%) e *Lagria villosa* (Fabricius, 1783) (5,28%). O maior número de espécies visitou as flores das cultivares foi entre 8h e 11h, enquanto a menor intensidade de visitação ocorreu entre 12h e 15h. Após determinados os testes de diversidade, observou-se que a cultivar não Bt apresentou maior diversidade quando comparada com a cultivar Bt.

**Palavras chave:** Polinizadores, diversidade, transgênicos.

#### INTRODUÇÃO

A cultura da soja tem ocorrência de muitas espécies de artrópodes que, frequentemente, ocasionam a diminuição na produtividade das lavouras, ou redução da qualidade das sementes e grãos (Roggia, 2010; Fonseca et al., 2015). As frequentes infestações de pragas tem acarretado um crescente uso de inseticidas químicos sintéticos em todas as

regiões produtoras no Brasil. Atualmente, é preocupante os efeitos nocivos que esses produtos inseticidas podem causar na polinização realizada por agentes entomófilos que constitui um fator de produção importante dessa cultura agrícola (Spadotto et al., 2004; Malaspina & Souza, 2006; Freitas & Pinheiro, 2012). Além do aumento no número de frutos ou vagens, a polinização, quando ocorre de maneira satisfatória, também pode contribuir para aumento no teor de óleos das sementes, aumento do número de grãos por vagem, aumento no peso das sementes, encurtamento do ciclo da cultura e, ainda, uniformiza o amadurecimento das sementes, reduzindo as perdas na colheita (Free, 1993; Freitas, 1997; Nogueira-Couto, 1998).

Visando reduzir os riscos à saúde humana, a contaminação ambiental e a suspeita de efeitos danosos sobre insetos polinizadores, como as abelhas, vem sendo motivada a restrição legal do uso de inseticidas nessa cultura (Anvisa, 2015).

Com o objetivo de minimizar as consequências decorrentes do ataque de insetos praga na cultura da soja e indicar a utilização de inseticidas, implementou-se o Manejo Integrado de Pragas da soja (MIP-Soja), que preconiza a utilização integrada de diversas estratégias e táticas de controle (Corrêa-Ferreira et al., 2010). Uma dessas estratégias é a tecnologia de plantas geneticamente modificadas (transgênicas) resistentes às pragas. Atualmente, as plantas transgênicas resistentes às lagartas contêm genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae) (Bt) que codificam toxinas letais para determinados grupos de insetos. As plantas Bt apresentam um potencial de minimizar perdas causadas por insetos-praga, principalmente da ordem Lepidoptera, bem como, reduzir o uso de inseticidas (Yu et al., 2011).

As proteínas inseticidas de Bt matam os insetos por um processo que inclui as etapas de processamento de solubilização do cristal, transformação para a forma ativa da protoxina, a ligação de alta afinidade com os receptores do intestino médio, a inserção, irreversível, da toxina na membrana e formação de poros para infecção (De Maagd et al., 2001; Bravo et al., 2005).

Apesar das inúmeras vantagens da utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos, ainda existem preocupações sobre os desconhecidos efeitos ambientais associados a essa tecnologia (Nunes, 2010; Kouser & Qaim, 2011). Diversos estudos demonstram que ainda não é claro o impacto que essa tecnologia pode apresentar sobre organismos não-alvo (Liu et al., 2005; Naranjo 2005; Faria et al., 2007; Whitehouse et al., 2007; Silva, 2013). Dessa forma, o uso em larga escala dos cultivos geneticamente modificados para resistência às pragas pode representar um risco para a biodiversidade devidos aos possíveis efeitos sobre organismos não-alvo (Dutra, 2012), o que torna ainda mais importante a realização de estudos que avaliem tal interação.

Os organismos não-alvos das plantas transgênicas são definidos como espécies que podem estar expostas a proteínas Bt por um longo tempo, mas que não são alvos diretos da tecnologia transgênica (Andow & Hilbeck, 2004). Entre esses organismos, um dos grupos mais importantes são os insetos polinizadores que podem estar expostos às

toxinas dessas plantas de forma direta, que ocorre quando estes insetos entram em contato direto com a proteína Bt através do consumo da planta ou de produtos das plantas, como néctar e pólen (Nunes, 2010), ou de forma indireta que é quando os artrópodes podem adquirir a proteína Bt através da alimentação de herbívoros ou pelo consumo do “honeydew” de insetos que se alimentaram da planta transgênica (Groot & Dicke, 2002; Faria et al., 2006).

Existem evidências de que a expressão de toxinas Bt, na planta transgênica, pode alterar (direta ou indiretamente) as populações de espécies não-alvo (Birch, 1997; Monnerat & Bravo, 2000), tal como a redução de populações de insetos polinizadores e visitantes florais em geral como besouros e borboletas, predadores e parasitoides, o que pode levar a redução do controle biológico de pragas (Hong et al., 2008). No milho Bt que, como no caso da cultura da soja utilizada nesta pesquisa, que expressa a toxina Cry1Ab, foi diagnosticado um efeito negativo na espécie não-alvo *Spodoptera littoralis* (Boisduva, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) e no seu parasitoide larval *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) (Vojtech et al., 2005). Efeito negativo semelhante também foi observado sobre o inimigo natural *Pirata subpiraticus* (Emerton, 1885) (Araneae: Lycosidae) na cultura do arroz transgênico, expressando a mesma proteína Cry1Ab (Chen et al., 2009).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi determinar as características da dinâmica populacional das espécies de insetos visitantes florais em cultivares de soja Bt e não Bt.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área experimental**

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal da Grande Dourados na cidade de Dourados-MS (22° 14' 20.51'' sul, 54° 59' M 58,4'' oeste e altitude de 394m). A área amostral compreendeu dois campos de 1,0 ha<sup>-1</sup> cada, sendo que um campo foi semeado com a cultivar (Bt) DM 6563 Intacta evento (MON 87701 × MON 89788) e o outro com a cultivar (não Bt) BMX potência RR evento (M 8360 RR). A semeadura de ambas as cultivares ocorreu no dia 05 de novembro de 2014, e apresentam semelhante ciclo fenológico.

### **Levantamento de visitantes florais**

As coletas dos visitantes florais ocorreram durante o estágio reprodutivo das cultivares no período de 26 de dezembro de 2014 a 11 de janeiro de 2015. O método de amostragem foi adaptado de Pires et al. (2006). As coletas dos visitantes florais foram feitas buscando-se determinar a abundância, diversidade e composição desses insetos nas cultivares Bt e não Bt, assim como o horário de visitação e a composição de espécies em cada horário avaliado, em ambas as cultivares.

Foram realizadas quatro avaliações em intervalos de três a quatro dias, sendo que, em cada avaliação, amostrou-se por um período de doze horas (entre 7h00min e 18h00min), com coleta de amostras durante quinze minutos a cada hora, em cada cultivar. A coleta dos insetos foi do tipo ativa, com o auxílio de rede entomológica, com os coletores caminhando aleatoriamente em cada cultivare. Foram capturados todos os insetos encontrados sobre as flores ou os que foram visualizados saindo das flores. Após os 15 minutos de coleta, os insetos sacrificados foram colocados em envelopes, constando data/hora, nome do coletor, tratamento e, em seguida, foram armazenados em caixa de isopor e levados ao Laboratório de Entomologia da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), sendo posteriormente triado.

### **Identificação dos visitantes florais**

Os insetos foram identificados ao maior nível taxonômico possível com o auxílio de chaves específicas para os grupos e confirmação com especialistas dos grupos.

### **Análise estatística**

Para analisar a diversidade das duas comunidades estudadas, foi calculada a função Shannon-Wiener e Simpson (Pinto-Coelho, 2002). Visando obter informações representativas da estrutura da comunidade de visitantes florais, baseada na composição de espécies, em cada horário e dia de coleta, foram testadas as normalidades dos dados do total de indivíduos de cada espécie em cada dia e hora de coleta através do teste de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, para avaliação em bloco (dias da avaliação) e tratamento (horários avaliados). Em seguida foi realizada a análise comparativa entre os diferentes horários e tratamentos através do teste de Kruskal-Wallis.

## **RESULTADOS**

Ambas as cultivares tiveram um estágio reprodutivo de, aproximadamente, 15 dias. Durante o estágio reprodutivo das cultivares, foram coletados 549 espécimes de insetos visitantes florais, divididos em oito ordens, 30 famílias e 92 espécies da classe Insecta. Desse total de insetos coletados, 279 indivíduos (50,81%) estavam presentes na cultivar Bt, enquanto 270 (49,18%) foram coletados nas flores da cultivar não Bt (Tabela 1). Não houve diferença significativa na abundância de espécies de insetos em relação as cultivares, sendo que em ambas as cultivares foram observados praticamente o mesmo número de indivíduos.

**Tabela 1-** Espécies de visitantes florais nas cultivares Bt e não Bt. Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H) Simpson (D) e número de indivíduos. Dourados/MS, 2015.

Táxon	Bt		Não Bt		
	Nº	P*logP	Nº	P*logP	
<b>Hymenoptera</b>					
Halictidae	<i>Augochloropsis</i> sp.1	1	-0,00876	2	-0,01578
	<i>Augochloropsis</i> sp.2	2	-0,01537	2	-0,01578
	<i>Augochloropsis</i> sp.3	0	0	1	-0,00901
	<i>Augochloropsis</i> sp.4	1	-0,00876	0	0
	<i>Dialictus</i> sp.1	1	-0,00876	0	0
	<i>Dialictus</i> sp.2	1	-0,00876	0	0
	<i>Dialictus</i> sp.3	3	-0,02116	0	0
	<i>Halictus</i> sp.1 (Latreille, 1804)	0	0	1	-0,00901
	<i>Halictus</i> sp.2 (Latreille, 1804)	2	-0,01537	1	-0,00901
	Ichneumonidae	Ichneumonidae Gênero A sp.1	0	0	2
Ichneumonidae Gênero B sp.1		0	0	1	-0,00901
Ichneumonidae Gênero C sp.1		0	0	1	-0,00901
Ichneumonidae Gênero C sp.2		0	0	1	-0,00901
Braconidae	Braconidae Gênero A sp.1	0	0	1	-0,00901
	Braconidae Gênero B sp.1	0	0	1	-0,00901
Sphecidae	<i>Ammophila</i> sp.1 (Kirby, 1798)	0	0	1	-0,00901
	<i>Sphex dorsalis</i> (Lepeletier, 1845)	1	-0,00876	2	-0,01578

Apidae	<i>Xylocopa brasilianorum</i> (Linnaeus,1767)	1	-0,00876	4	-0,0271
	<i>Eulaema nigrita</i> (Lepelletier,1841)	0	0	1	-0,00901
	<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)	2	-0,01537	2	-0,01578
	<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus,1758)	102	-0,15976	91	-0,15919
Pompilidae	<i>Aplochaes</i> sp. (Banks,1944)	1	-0,00876	1	-0,00901
	<i>Agenioideus</i> sp. (Ashmead, 1902)	1	-0,00876	0	0
	<i>Chalcochaes</i> sp.1 (Banks,1917)	1	-0,00876	0	0
	<i>Chalcochaes</i> sp.2 (Banks,1917)	0	0	2	-0,01578
	<i>Protonectarina sylveirae</i> (de Saussure,1854)	0	0	1	-0,00901
Vespidae	<i>Polistes</i> sp.1	0	0	1	-0,00901
	<i>Polistes</i> sp.2	1	-0,00876	0	0
	<i>Polybia paulista</i> (Ihering,1896)	1	-0,00876	0	0
	<i>Pachodynerus guadalupensis</i> (De Saussure,1853)	0	0	1	-0,00901
Total de indivíduos da Ordem Hymenoptera		122		121	
Número de espécies da Ordem Hymenoptera		16		22	
<b>Hemiptera</b>					
Pentatomidae	<i>Nezara viridula</i> (Linnaeus,1758)	2	-0,01537	1	-0,00901
	<i>Piezodorus guildinii</i> (Westwood,1837)	1	-0,00876	2	-0,01578
	<i>Euchistus heros</i> (Fabricius,1794)	1	-0,00876	1	-0,00901
Pyrrhocoridae	<i>Dysdercus maurus</i> (Distant, 1901)	2	-0,01537	4	-0,02710
	<i>Dysdercus</i> sp.1 (Boisduval, 1835)	2	-0,01537	3	-0,02171
	<i>Dysdercus</i> sp.2 (Boisduval, 1835)	1	-0,00876	3	-0,02171

	Total de indivíduos da Ordem Hemiptera	9		14	
	Número de espécies da Ordem Hemiptera	6		6	
<b>Coleoptera</b>					
Coccinelidae	<i>Scymnus</i> sp. (Kugelann, 1794)	0	0	1	-0,00901
	<i>Cicloneda sanguínea</i> (Linnaeus, 1763)	1	-0,00876	0	0
	<i>Eriopis conexa</i> (Germar, 1824)	0	0	1	-0,00901
Carabidae	<i>Odontochila</i> sp.1 (Agassiz, 1847)	1	-0,00876	0	0
	<i>Odontochila</i> sp.2 (Agassiz, 1847)	0	0	1	-0,00901
Tenebrionidae	<i>Lagria villosa</i> (Fabricius, 1783)	16	-0,07119	13	-0,06343
Chrysomelidae	<i>Diabrotica speciosa</i> (Germar, 1824)	9	-0,04810	5	-0,03208
	<i>Colaspis joliveti</i> (Bechyne, 1955)	1	-0,00876	0	0
	<i>Colaspis</i> sp. (Fabricius, 1801)	7	-0,04015	6	-0,03674
	<i>Cerotoma arcuatus</i> Oliver, 1791	0	0	1	-0,00901
Scarabaeidae	<i>Macroductylus</i> sp. (Dejean, 1821)	1	-0,00876	3	-0,02171
	<i>Euphoria lúrida</i> (Fabricius, 1775)	1	-0,00876	0	0
Curculionidae	<i>Anthonomus</i> sp. (Germar, 1817)	1	-0,00876	0	0
	<i>Sternechus mrázi</i> (Voss, 1934)	3	-0,02116	0	0
Staphylinidae	Staphylinidae sp.1 (Latreille, 1802)	2	-0,01537	0	0
	Staphylinidae sp.2(Latreille, 1802)	0	0	3	-0,02171
Elateridae	Elaterinae sp.1	1	-0,00876	0	0
	Elaterinae sp.2	1	-0,00876	0	0
	<i>Conoderus malleatus</i> (Germar, 1824)	0	0	1	-0,00901
	Total de indivíduos da Ordem Coleoptera	45		34	
	Número de espécies da Ordem Coleoptera	13		10	

<b>Lepidoptera</b>					
Nymphalidae	<i>Dione juno</i> (Cramer, 1779)	6	-0,03585	6	-0,03674
	<i>Dione</i> sp.1(Hübner, 1819)	1	-0,00876	0	0
	<i>Dione</i> sp.2 (Hübner, 1819)	0	0	1	-0,00901
	<i>Doxocopa agathina</i> (Cramer, 1777)	2	-0,01537	2	-0,01578
	<i>Hamadryas februa</i> (Hübner, 1821)	4	-0,02643	4	-0,0271
	<i>Dryas iulia</i> Fabricius, 1775)	0	0	2	-0,01578
	<i>Diaethria clymena</i> (Cramer, 1775)	1	-0,00876	0	0
	<i>Hypothyris euclea</i> (Godart, 1819)	1	-0,00876	1	-0,00901
	<i>Dynamine postverta</i> (Cramer, 1771)	2	-0,01537	1	-0,00901
	Theclinae	<i>Strymon</i> sp. (Hübner, 1818)	0	0	1
Hesperiidae	<i>Strymon</i> sp. (Hübner, 1818)	1	-0,00876	0	0
Noctuidae	<i>Pyrgus orcus</i> (Stoll, 1780)	1	-0,00876	0	0
Heliconiinae	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (Hübner, 1818)	7	0,04015	19	-0,08111
	<i>Euptoieta hegesia</i> (Cramer, 1779)	1	-0,00876	0	0
Total de indivíduos da Ordem Lepidoptera		27		37	
Número de espécies da Ordem Lepidoptera		11		9	
<b>Diptera</b>					
Syrphidae	<i>Allograpta obliqua</i> (Say, 1823)	6	-0,03585	5	-0,03208
	<i>Allograpta exótica</i> (Wiedemann, 1830)	6	-0,03585	7	-0,04113
	<i>Ornidia obesa</i> (Lepeletier & Serville, 1828)	1	-0,00876	1	-0,00901
	<i>Toxomorus politus</i> (Say, 1823)	0	0	1	-0,00901
Tachinidae	Tachinidae sp.1	5	-0,03130	2	-0,01578
	Tachinidae sp.2	1	-0,00876	0	0
	Tachinidae sp.3	2	-0,01537	0	0

	Tachinidae sp.4	1	-0,00876	0	0
	Tachinidae sp.5	8	-0,04422	2	-0,01578
	Tachinidae sp.6	1	-0,00876	4	-0,02710
	Tachinidae sp.7	1	-0,00876	0	0
	Tachinidae sp.8	2	-0,01537	0	0
	Tachinidae sp.9	0	0	1	-0,00901
	Tachinidae sp.10	0	0	1	-0,00901
	Tachinidae sp.11	1	-0,00876	0	0
	Tachinidae sp.12	3	-0,02116	2	-0,01578
Muscidae	<i>Musca</i> sp.1	29	-0,10219	26	-0,09787
	<i>Musca</i> sp.2	0	0	1	-0,00901
	<i>Musca</i> sp.3	3	-0,02116	2	-0,01578
Calliphoridae	Calliphoridae sp.1	1	-0,00876	1	-0,00901
Tabanidae	Tabanidae sp.1	2	-0,01537	4	-0,02710
Total de indivíduos da Ordem Diptera		73		60	
Número de espécies da Ordem Diptera		17		15	
<b>Mantodea</b>					
Mantidae	Mantidae	0	0	1	-0,00901
Total de indivíduos da Ordem Mantodea		0		1	
Número de espécies da Ordem Mantodea		0		1	
<b>Neuroptera</b>					
Chrysopidae	Chrysopidae	3	-0,02116	0	0
Total de indivíduos da Ordem Neuroptera		3		0	
Número de espécies da Ordem Neuroptera		1		0	
<b>Dermaptera</b>					

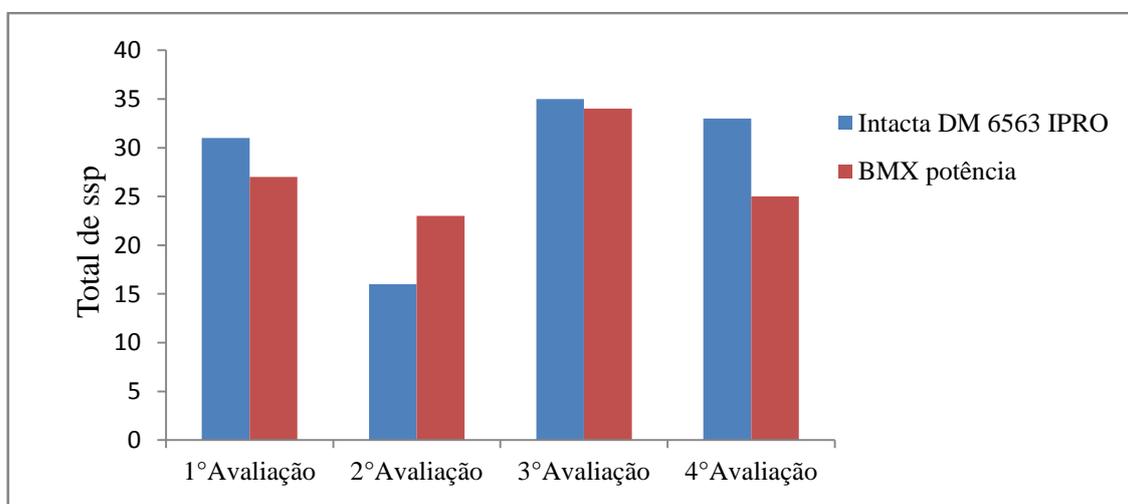
Forficulidae	<i>Doru luteipes</i> (Scudder, 1876)	0	0	2	-0,01578
Total de indivíduos da Ordem Dermaptera		0		2	
Número de espécies da Ordem Dermaptera		0		1	
<b>Total</b>		279		270	
<b>H</b>		<b>1,22871</b>		<b>1,30280</b>	
<b>D</b>		<b>0,84557</b>		<b>0,86471</b>	

P = proporção da amostra contendo indivíduos da espécie i; Bt= número de indivíduos encontrados na cultivar NBT; Não Bt= número de indivíduos encontrados na cultivar não Bt.

Representantes da ordem Hymenoptera, que tiveram o maior número de espécimes coletados durante o período de floração das cultivares, apresentaram, dentre todas as ordens ocorrentes, a maior abundância, tanto na cultivar Bt onde foram amostrados 122 indivíduos (43,72% do total encontrado nesta cultivar), quanto na cultivar não Bt que apresentou 121 indivíduos dessa ordem (44,81%). Já Diptera foi a ordem com maior diversidade, com um total de 15 espécies na cultivar não Bt e 17 espécies observadas na cultivar Bt, vindo posteriormente Hymenoptera com 22 espécies na cultivar não Bt e 16 na cultivar Bt. Coleoptera ocorreu com 10 espécies na não Bt e 13 espécies na Bt, Lepidoptera com nove (não Bt) e 11 espécies (Bt), Hemiptera com seis espécies em ambas as cultivres, enquanto as ordens Neuroptera, Mantodea, e Dermaptera contribuíram com apenas uma espécie.

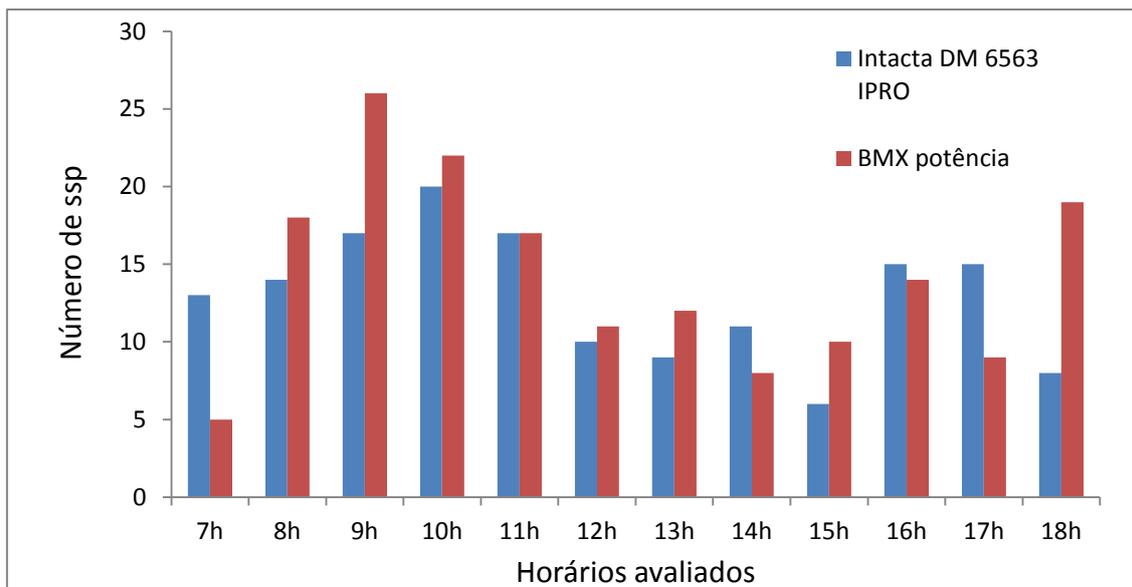
Apesar da distribuição das espécies ser muito parecida entre as duas cultivares avaliadas, após determinados os testes de Shannon- Wiener e Simpson, observou-se que a cultivar não Bt apresentou maior diversidade ( $H= 1,30280$ ;  $D= 0,86471$ ) quando comparada com a cultivar Bt ( $H= 1,22871$ ;  $D= 0,84557$ ).

O maior número de espécies ocorreu na terceira avaliação realizada no dia 6 de janeiro com total de 34 espécies na não Bt e 35 Bt, primeira (dia 30 de dezembro) e a quarta (dia 09 de janeiro) avaliações apresentaram número próximo do total de espécies, enquanto a segunda (dia 02 de janeiro) avaliação apresentou com o menor valor das espécies encontradas durante o período das amostragens (Figura 1).



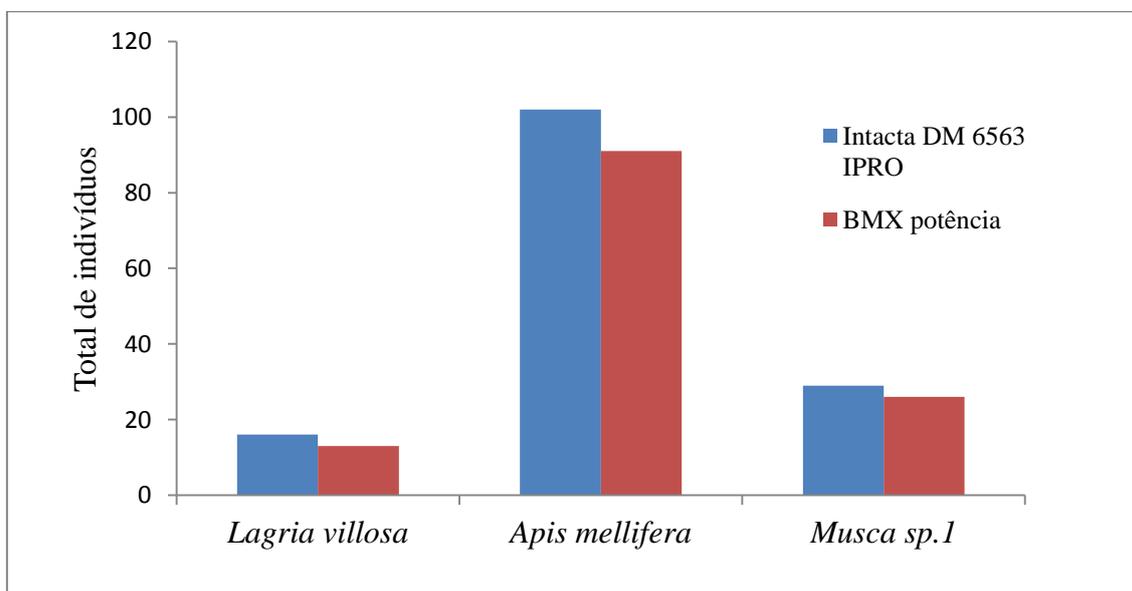
**Figura 1-** Riqueza de espécies visitantes florais na cultura da soja. Dourados, MS, 2015.

Com relação aos horários de ocorrência das espécies, entre às 8h00min e 11h00min horas ocorreram o maior número de espécies visitantes florais na cultura da soja. Entre às 12h00min e 15h00min horas houve a menor visitação das espécies presentes nas flores das plantas de soja (Figura 2).



**Figura 2-** Riqueza de espécies visitantes florais na cultura da soja nos diferentes horários avaliados. Dourados, MS, 2015.

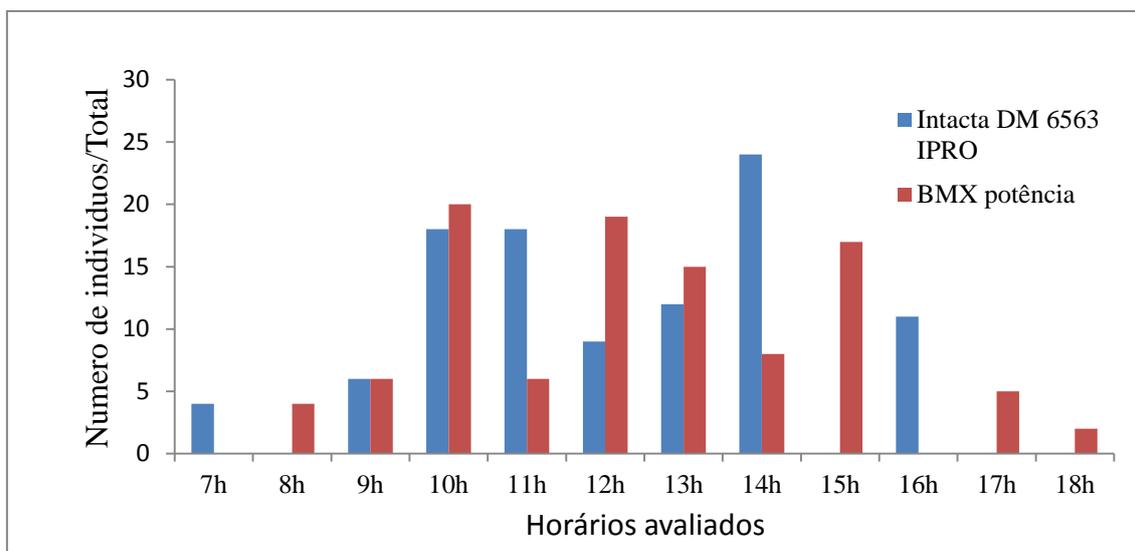
Dentre as 103 espécies coletadas nas duas cultivares de soja, a espécie *Apis mellifera* L. se destacou em número de indivíduos com um total de 102 na cultivar Intacta e 91 na cultivar BMX Potência, representando respectivamente 36,55% e 33,70% do total de insetos encontrados nas duas cultivares da cultura (Figura 3).



**Figura 3-** Abundância das espécies mais frequentes de visitante floral na cultura da soja. Dourados, MS, 2015.

A análise do total de indivíduos de *A. mellifera* observados durante o período do dia avaliado (das 07h00min às 18h00min) (Figura 4) não indicou normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk que avaliou bloco (dias da avaliação) e tratamento (horários avaliados). Sendo assim, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha = 5\%$ ), no qual foi analisada a diferença da abundância de *A.*

*mellifera* nas diferentes classes de horários, sendo que esse teste estatístico não indicou diferenças significativas entre as classes de horários nas duas cultivares.



**Figura 4** – Abundância de *Apis mellifera* visitante floral na cultura da soja. Dourados, MS, 2015.

## DISCUSSÃO

Pelo fato de não ter havido diferença significativa na abundância e riqueza de insetos visitantes florais entre os dois tratamentos de *Glicine max* (Linnaeus) Merrill, é possível sugerir que esse grupo de insetos não é diretamente afetado pela toxina Bt expressa na cultivar Bt avaliada. De maneira semelhante, Higgins (2009) analisou artrópodes não-alvos a nível de comunidade por um período de três anos no milho, na região de maior produção nos Estados Unidos, e também, não observou impacto significativo sobre a abundância da comunidade, quando comparados campos de milho Bt com milho não-Bt.

Na presente pesquisa, os índices de diversidade de Shannon-Wiener ( $H'$ ) alcançou valores muito próximos nas duas cultivares avaliadas. Esses resultados aproximados entre as cultivares Bt e não Bt representam igualdade na relação riqueza e abundância de espécies entre as cultivares avaliadas. No entanto, inicialmente se esperava menores índices de riqueza no tratamento da cultivar Intacta devido a um maior grau de perturbação no ambiente causado pela presença da toxina Cry1Ac, já que ambientes menos alterados tendem a ter uma maior riqueza de espécies (Odum, 1988; Freitas & Pinheiro, 2012). Porém, nas cultivares não tolerantes a insetos, o uso geralmente obrigatório de inseticidas também pode proporcionar agregações no ambiente.

Dentre os himenópteros coletados, os representantes da família Apidae foram os mais abundantes, representando, respectivamente, 40,86% e 38,14% do total de insetos encontrados nas cultivares Bt e não Bt, totalizando 9 espécies em ambas as cultivares, sendo que *A. mellifera* foi a mais abundante. Resultados parecidos também foram observados no Mato Grosso do Sul com relação à diversidade de insetos visitantes florais em algodoeiro (Dutra et al., 2012), assim como em outras regiões do país, como Bahia, Goiás, Mato Grosso, São Paulo e no Distrito Federal (Pires et al., 2006b).

A maior abundância de indivíduos da espécie *A. mellifera* pode ser atribuída ao fato de que essa espécie visita as flores em troca dos recursos florais ofertados (Machado, 2006; Dutra et al., 2012), e como a cultura da soja oferece uma quantidade de recursos florais muito maior do que a vegetação do entorno, ocorre uma intensa procura das abelhas. O elevado número de indivíduos de *A. mellifera* também ocorreu devido a instalação de colmeia próximo a área amostral. O pico de visitantes no período entre 08h00min e 11h00min é devido a maior produção e oferecimento de recursos florais, sendo esse o horário em que as flores estão abertas, e tem as operárias atraídas pelas flores. Essa espécie se destaca como importante polinizadora e é considerada a que possui maior número de interações com plantas (Mouga et al., 2012). A presença dessas abelhas se torna um fator importante para a produção da cultura da soja, uma vez que influencia positivamente a produção dos grãos e a qualidade da semente, pois apresenta eficiência na polinização de 97,43% quando comparada com outros insetos (Chiari et al., 2008).

Um importante distúrbio denominado Desordem do Colapso das Colônias (DCC) vem sendo alvo de muitos estudos em todo o mundo devido ao efeito de desaparecimento dos indivíduos que formam as colônias de abelhas. Durante a ocorrência deste evento os sinais mais claramente visíveis são a ausência de abelhas mortas no apiário, a rápida diminuição no número de abelhas adultas e a falta de cleptoparasitas (Cox-Foster & vanEngelsdorp, 2009). Uma das prováveis causas mais importante desse distúrbio tem sido relatado como o efeito de inseticidas químicos sobre ou próximo às colônias. Nesse sentido, buscando proteger as espécies de abelhas, principalmente *A. mellifera*, do fenômeno do DCC, a informação obtida no presente trabalho a respeito do horário com a menor intensidade de visitação (entre 7h00min e 9h00min, 16h00min e 18h00min) desses insetos, permite a recomendação desse período do dia para que sejam feitas as aplicações de inseticidas na cultura, quando necessário.

Com base nos resultados desse estudo é possível concluir que a toxina Cry 1Ac não afetou a dinâmica populacional nem a composição das espécies de insetos visitantes florais na cultura da soja, não apresentando diferença significativa na diversidade, composição de espécies, frequência, riqueza, e horário de ocorrência, dentre as espécies de visitantes florais nas cultivares de soja Bt e não Bt.

## REFERÊNCIAS

- Andow DA, Hilbeck A (2004). Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *BioScience*. 54: 637-649.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2015). ANVISA. [www.anvisa.gov.br/divulga/noticias](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias). Acesso em: 28 jul. 2015.
- Birch RG (1997) Plant transformation: Problems and Strategies for Practical Application. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*.48:297–326.
- Bravo A, Gill SS, Soberon M (2005). *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS (eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*, Elsevier. 6:175-206.
- Chen M, Liu ZC, Frag Q, Hu C, Peng YF, Shelton AM (2009). Analysis of Cry1Ab toxin bioaccumulation in a food chain of Bt rice, an herbivore and a predator. *Ecotoxicology*. 18:230-238.
- Chiari WC, Toledo VAA, Hoffmann-Campo CB, Rúvolo-Takasusuki MCC, Toledo TCSOA, Lopes TS (2008). Polinização por *Apis mellifera* em soja transgênica [*Glycine max* (L.)] Roundup Ready™ cv. BRS 245 RR e convencional cv. BRS 133. *Acta Scientiarum Agronomy*. 30:267-271.
- Corrêa-Ferreira BS, Alexandre TM, Pellizzaro EC, Moscardi F, Bueno AF (2010). Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura. Londrina:Embrapa Soja. Circular Técnica.78:15.
- Cox-Foster D, vanEngelsdorp D (2009). Solving the mystery of the disappearing bees. *Scientific American*, New York. Disponível em: <<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=saving-the-honeybee>>.
- De Maagd RA, Bravo A, Crickmore N (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*. 17:193-199.

- Dutra CC, Meotti C, Fernandes MG, Raizer J (2012). Riqueza e composição de insetos visitantes florais em algodoeiro Bt e não Bt. *Arquivos do Instituto Biológico*. 79:353-361.
- Faria CA, Wackers FL, Pritchard J, Barrett DA, Turlings TCJ (2007). High susceptibility of Bt maize to aphids enhances the performance of parasitoids of lepidopteran pests. *PLoS One*. 7:1-11.
- Faria MF, Lundgren JG, Fontes EMG, Fernandes OA, Schimidt F, Nguyen VT, Andow DA (2006). Assessing the effects of Bt Cotton on Generalist Arthropod Predator. In: Hilbeck, A., Andow, D.A., Fontes, E.M.G. Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil. CABI publishing. 175-199.
- Free JB (1993). Insect pollination of crops. London: Academic Press.
- Freitas BM (1997). Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. *Revista Brasileira de Biologia, São Carlos*. 57:289-294.
- Freitas BM, Pinheiro JN (2012). Polinizadores e pesticidas: princípios e manejo para os agroecossistemas brasileiros. Brasília: MMA. 112 p.
- Groot AT, Dicke M (2002). Insect-resistant transgenic plants in a multitrophic context. *The Plant Journal*. 31:387-406.
- Higgins LS, Babcock J, Neese P, Layton RJ, Moellenbeck D, Storer N (2009) Three-year field monitoring of Cry1F, Event DASØ15Ø7-1, maize hybrids for non-target arthropod effects. *Environmental Entomology*. 38:281-292.
- Hong LTT, Tâm DQ, Tuân HA (2008). Potential effects of transgenic Cotton on flower visitors in Vietnam. In: Andow, DA, Hillbeck A, Van Tuat AN (Ed.). Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms: challenges and opportunities with Bt cotton in Vietnam. Wallingford: CABI. 9:432p.
- Kouser S, Qaim M. (2011). Impact of Bt cotton on pesticide poisoning in smallholder agriculture: A panel data analysis. *Ecological Economics*. 70:2105-2113.
- Liu XX, Sun CG, Zhang QW (2005). Effects of transgenic Cry1A+CpTI cotton and Cry1Ac toxin on the parasitoid, *Campoletis chlorideae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Insect Science*, 12: 101-107.
- Liu W, Wang F, Zhang F, Meng Z, Wang F (2000). Evaluation on role of predators in *Helicoverpa armigera* control. *Chinese Journal of Biological Control*. 16: 97-101.

- Machado CS (2006). Aspectos de interesse da polinização entomófila de *Helianthus annuus* L. no Recôncavo Baiano. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Bahia. Cruz das Almas, Bahia.
- Malaspina O, Silva-Zacarin ECM (2006) Cell markers for ecotoxicological studies in target organs of bees. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*. 23:303-309.
- Monnerat RG, Bravo A (2000). Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: Melo IS, Azevedo JL (Ed.). *Controle biológico 3*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.163-200.
- Mouga DMDS, Noble CF, Bussmann DBG, Krug C (2012). Bees and plants in a transition area between atlantic rain forest and araucaria forest in southern Brazil. *Revue d'Ecologie*. 67:313-327.
- Naranjo SE (2005). Long-Term Assessment of the Effects of Transgenic Bt Cotton on the Abundance of Nontarget Arthropod Natural Enemies. *Environmental Entomology*. 34:1193-1210.
- Nogueira-Couto RH (1998). Manejo das colméias de abelhas africanizadas para polinização. In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura. Salvador: Confederação Brasileira de Apicultura. 129-134.
- Nunes DH (2010). Efeitos do algodoeiro geneticamente modificado Bollgard® em organismos não-alvo. Tese Doutorado em Ciências. Universidade de São Paulo, Piracicaba. 211f.
- Odum EP (1988). *Ecologia*. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro.
- Pires C, Silveira, FA, Pereira FO, Paes JS, Sujii ER, Fontes E (2006a). Protocolo de amostragem de visitantes florais em algodoeiro (*Gossypium* spp.). Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa e desenvolvimento 131p.
- Pinto-Coelho RM (2002). *Fundamentos em Ecologia*. Porto Alegre, Ed:Artmed.
- Pires C, Silveira F, Cardoso CF, Oliveira GM, Pereira FFO, Souza VV, Nakasu EYT, Paes JSO, Teles É, Silvie P, Rodrigues S, Miranda J, Scomarini J, Bastos C, Oliveira GS, Oliveira JE, Santos JB, Barroso PAV, Sujii E, Fontes E (2006b). Visitantes florais em espécies cultivadas e não cultivadas de algodoeiro (*Gossypium* spp.), em diferentes regiões do Brasil. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. 148:40.
- Roggia S (2010). Caracterização de fatores determinantes dos aumentos populacionais de ácaros tetraniquídeos em soja. Tese, Doutorado em Entomologia, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- Shannon CE, Weaver W (1949). The mathematical theory of communication. Urbana: University of Illinois Press.
- Silva GV (2013). Efeito das plantas Bt de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais. Dissertação, Mestrado em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Spadotto CA, Gomes MAF, Luchini LC, Andrea MM (2004). Monitoramento de riscoambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. 29p.
- Vojtech E, Meissle M, Poppy GM (2005). Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). Transgenic Research. 14:133–144.
- Yu HL, Yun HL, Kong MW (2011). Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. Journal of Integrative Plant Biology. 53:520-538.
- Whitehouse MEA, Wilson LJ, Constable GA (2007). Target and non-target effects on the invertebrate community of Vip cotton, a new insecticidal transgenic. Aust J Agr. Res. 58:273–285.

## Capítulo 2

### Ocorrência de *Apis mellifera* L. e visitantes florais nativos para o aumento da produção das cultivares de soja Bt e não Bt

\* Artigo formatado de acordo com as normas do periódico Anais Academia Brasileira de Ciências, com adaptações para as normas de dissertações e teses da UFGD.

FABIOLA DE OLIVEIRA<sup>1</sup>, MARCOS GINO FERNANDES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais. Programa de Pós Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, 79404-070 Dourados, MS, Brasil. Email: fabiola\_bettinardi@yahoo.com.br, marcosfernandes@ufgd.edu.br

### RESUMO

A polinização constitui-se em um fundamental fator de produção na cultura da soja em todo mundo. Além do aumento no número de vagens produzidas, a polinização, quando bem conduzida, também contribui para aumento no número de grãos por vagem, melhora a qualidade dos grãos e sementes e, ainda, uniformiza o amadurecimento dos grãos, aumentando a produção na colheita. O objetivo desse trabalho foi avaliar (quantificar) os benefícios dos insetos visitantes florais na produção da soja. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da UFGD, onde foram avaliadas duas cultivares de soja, sendo uma Bt e outra não Bt. Em cada cultivar, durante o período de florescimento, foram aleatoriamente marcadas 150 plantas que compuseram 25 repetições (três plantas para cada repetição) com visitação livre de visitantes florais, e outras 25 repetições (também com três plantas por repetição) em que não foram permitida a presença de visitantes florais. No tratamento em que não foi permitida a visitação de visitantes florais, foram colocadas gaiolas com armação de ferro cobertas com *voil*, durante todo o período de floração, para impedir o acesso dos insetos. Durante o período de floração, foram contabilizadas, em ambas as cultivares, 549 espécimes de insetos visitantes florais, divididos em oito ordens, 30 famílias e 92 espécies. As espécies mais abundantes foram *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758), *Musca* sp.1 (Linnaeus, 1758) e *Lagriavillosa* (Fabricius, 1783). No tratamento com a presença dos visitantes florais, houve um incremento no peso de grãos da ordem de 84,22% na cultivar Bt, e 202,52% na cultivar não Bt, com relação a área sem a presença dos visitantes florais. O aumento no número de vagens na cultivar Bt foi da ordem de 45,72% e 101,25% na

cultivar não Bt, na área aberta aos visitantes florais. O elevado incremento na produção de grãos e número de vagens observado na área com livre presença de insetos polinizadores deixa explícita a elevada importância do serviço de polinização realizado pelos visitantes florais para a cultura da soja.

Palavras-chave: *Glycine max*, polinizadores, produção de soja.

## INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (Linnaeus) Merrill) é de grande importância no mercado mundial, sendo uma das principais *commodities* agrícolas do Brasil, o qual ocupa o segundo lugar no ranking mundial de produção, tendo, ainda, aumentado continuamente a área cultivada com essa leguminosa (Agrianual, 2015; Embrapa, 2015). No entanto, diversas espécies de artrópodes causam danos à essa cultura, reduzindo a produtividade das lavouras e a qualidade dos grãos e sementes produzidos (Sosa-Gomés et al., 2006).

A aplicação abundante de praguicidas para controle de pragas da cultura pode resultar em efeitos adversos sobre organismos benéficos, resíduos de produtos químicos em alimentos e poluição ambiental. Apesar dos evidentes benefícios para a agricultura devido ao uso de praguicidas para evitar perdas associadas ao ataque de insetos, há a necessidade de se desenvolver alternativas ou tecnologias adicionais que permitam o uso racional desses produtos, e fornecer a proteção adequada para produção de alimentos, ração e fibra, de forma sustentável (Sharma et al., 2000).

Com a engenharia genética têm se criado variedades geneticamente modificadas (GM) de muitos cultivos que expressam a toxina proveniente da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae) (Bt). Através das técnicas de DNA recombinante, o gene dessa bactéria é inserido na planta que passam a produzir as proteínas Cry, dentre outras ainda sem grande importância comercial. Após o inseto ingerir a proteína Cry é provocada uma ruptura osmótica das células epiteliais do seu tubo digestivo, determinando sua morte antes mesmo que consigam causar danos à cultura (Hofte & Whitely 1989; Sankula, 2006; Andow, 2008).

*B. thuringiensis* têm sido o grupo mais bem sucedido de organismos identificados para utilização de genes em transformação genética de plantas para controlar pragas (Charles et al., 1996; Hilder & Boulter, 1999).

No Brasil, as tecnologias ou “eventos” combinados para soja geneticamente modificadas, MON 87701 conferindo resistente a insetos, e MON 89788 conferindo tolerância ao herbicida glifosato, tiveram sua liberação comercial em agosto de 2010 (CTNBio, 2010).

A tecnologia denominada comercialmente de Intacta RR2 PRO, contendo os eventos MON 87701 e MON 89788, confere resistência às principais lagartas desfolhadoras da cultura como lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae), *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) e broca das axilas *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Noctuidae) pragas-alvo dessa tecnologia Bt, para as quais é dispensada a aplicação de inseticidas (Monsanto, 2012). Permanece a necessidade de monitoramento e controle para percevejos e demais lagartas não-alvos.

A polinização constitui-se, atualmente, em um fator de produção fundamental para produção da cultura da soja em todo mundo. Além do aumento no número de vagens formadas, a polinização, quando bem conduzida, também contribui para aumento no número de grãos por vagem, melhora a qualidade dos grãos e sementes formados, diminui os índices de malformação dos grãos, aumenta o teor de óleos e outras substâncias extraídas dos grãos e sementes, encurta o ciclo de algumas cultivares e, ainda, uniformiza o amadurecimento dos grãos, aumentando as produções nas colheitas (Free, 1993; McGregor, 1976; Williams et al., 1991; Freitas, 1997; Nogueira-Couto, 1994 e 1998).

A polinização entomófila é responsável por aumento de até 58,58% no número de vagens, 82,31% no número de sementes, 57,73% na produção de sementes e de 61,38% na quantidade de vagens, quando compara-se plantas com livre visitação de insetos em relação às plantas em que não foram permitidas a polinização cruzada (Chiari et al., 2005). O número de flores não polinizadas na cultura da soja pode ser, também, bastante elevada. Em algumas cultivares dessa cultura, mais de 75% das flores produzidas não desenvolveram sementes (Free, 1993), em virtude de deficiente polinização entomófila.

Dentre os vários agentes polinizadores, destacam-se os insetos, por serem abundantes na natureza e ajustarem-se perfeitamente às diferentes estruturas florais (Free, 1993). *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Apidae) é conhecida como polinizador altamente eficiente por ser responsável por 80% da polinização entomófila

em várias culturas (McGregor, 1976). Estudos realizados sobre o efeito da polinização em soja destacam a elevada importância da polinização por insetos para essa cultura (Moreti, 1998). Em estudos com introdução de colônias de *A. mellifera* próximos aos campos de produção, constatou-se aumento na produção de soja de 18,09%, em relação a área sem a instalação de colmeias (Milfont et al., 2013).

O abortamento natural das flores de soja pode atingir até 80%, dependendo da cultivar e das condições ambientais (Carlson, 1973; Justiniano et al., 2014). A presença de polinizadores pode diminuir drasticamente esse abortamento, pois já foi relatado valores médios de 53,31 e 82,90% de abscisão de flores dessa cultura quando abelhas *A. mellifera* estavam presentes e ausentes, respectivamente (Chiari, 2005).

O presente trabalho foi realizado com intenção de avaliar, através de quantificação, os benefícios dos insetos visitantes florais para a produção da cultura da soja Bt e não Bt.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Área experimental.** O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (22° 14' 20.51'' sul, 54° 59' M 58,4'' oeste e altitude de 394m), na cidade de Dourados-MS. A área amostral compreendeu dois campos de 1,0 ha<sup>-1</sup> cada, sendo um campo semeado com a cultivar DM 6563 Intacta evento MON 87701×MON 89788 (transgênica Bt) e o outro com a cultivar BMX potência RR evento M 8360 RR (transgênica não Bt). No dia 05 de novembro de 2014 foi realizada a semeadura de ambas as cultivares. Durante o período amostral não ocorreu a presença de pragas atingindo o nível de controle que exigisse pulverização de produtos inseticidas.

**Coleta dos dados.** As variáveis analisadas foram a massa de grãos produzidos por planta, o número de vagens por planta e a altura das plantas em ambas as culturas, divididas em área aberta, com a livre visitação de insetos visitantes florais, e em área fechada, sem visitação de insetos visitantes florais.

Área aberta: Foram demarcadas aleatoriamente, em cada cultivar, 25 repetições com três plantas em cada repetição. Essas repetições foram marcadas com estacas e fitas, ficando expostas à presença natural dos visitantes florais. Posteriormente, mediuse a altura das plantas, sendo estas, em seguida, cortadas ao nível do solo, levadas ao

laboratório onde foram anotadas o número de vagens formadas e a massa dos grãos de cada terça parte da planta em cada repetição.

Área fechada: Foram marcadas aleatoriamente, em cada cultivar, 25 repetições com três plantas em cada repetição. Cada repetição (conjunto de três plantas) foi coberta com uma estrutura de metal e cobertas com uma capa de *voil*. Essas ‘gaiolas’ foram colocadas nas duas áreas amostrais imediatamente antes do início do período reprodutivo e permaneceu até o final da produção de flores nas plantas. Posteriormente, foram tomados os mesmos dados da área aberta relativos à altura de plantas, total de vagens e massa de grãos produzidos em cada repetição.

Ao lado das áreas amostrais foi instalada uma colmeia de *A. mellifera* para favorecer a presença dessa espécie polinizando a cultura.

Os dados relativos ao desenvolvimento e produção das plantas foram tomados quando as plantas estavam em fase de total desenvolvimento reprodutivo (adequado para a colheita). Nessa fase foram retiradas e contadas, separadamente nos terços inferiores, médios e superiores de cada planta, o total de vagens de cada repetição, visando conhecer a distribuição vertical da produção. Os grãos presentes em cada vagem de cada repetição foram retirados, secados em estufa de secagem (64 L) e pesados, também separados pelas terças partes das plantas. Cada uma das três plantas que compunham cada repetição tiveram, ainda, medidas suas alturas com régua à partir do nível do solo.

A avaliação do peso médio das sementes em cada tratamento e cultivar, foram realizadas por meio da pesagem em balança analítica das sementes de cada amostra separadas pelos terços, obtendo uma média por terço da planta (inferior, médio e superior), por tratamento (área aberta e fechada) e cultivar (soja Bt e não Bt).

**Monitoramento.** A cultura da soja foi monitorada durante o período de florescimento (26 de dezembro de 2014 a 11 de janeiro de 2015). O método de amostragem foi adaptado de Pires et al. (2006), com a utilização de rede entomológica. As coletas dos indivíduos de visitantes florais foram feitas buscando-se determinar a abundância e a diversidade desses insetos.

**Análise dos dados.** Para analisar a produção de sementes, utilizou-se o delineamento de experimentos inteiramente casualizados com dois tratamentos (com *voil* e sem *voil*) e 25 repetições, sendo os dados submetidos a análise de variância. Para comparação das médias de cada variável testada, após a realização dos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade dos dados de

produção e altura de plantas, utilizou-se o teste T de Student, com nível de 5% de probabilidade para comparar os tratamentos com e sem *voil*.

## RESULTADOS

Durante o período de floração das cultivares, foram coletados 549 espécimes de insetos visitantes florais, divididos em oito ordens, 30 famílias e 92 espécies. Desse total de insetos coletados, 279 indivíduos estavam presentes na cultivar Intacta (Bt), enquanto 270 foram coletados nas flores da cultivar Potência (não Bt). Dentre as espécies de visitantes florais coletadas nas duas cultivares de soja estudadas, os representantes da família Apidae (Hymenoptera) foram os mais abundantes. A espécie *A. mellifera* foi a mais abundante em ambas as cultivares, em seguida prevaleceram as espécies *Musca* sp.1 (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Lagria villosa* (Fabricius, 1783) (Coleoptera: Tenebrionidae).

É possível observar que, houve considerável aumento na produção das duas cultivares avaliadas no tratamento que ficou exposto à visitação de insetos, pois ocorreu menor produção de grãos nas amostras cobertas pelas gaiolas quando comparadas com as amostras abertas (Tabela 1). Esse incremento no peso de grãos foi da ordem de 84,22% (de 8,1448 g/repetição na área coberta para 15,0113g na área aberta) na produção total da cultivar Intacta, e 202,52% (de 2,0800g no tratamento com *voil* para 6,2865g no tratamento sem *voil*) na cultivar Potência. Na cultivar Intacta, as amostras que ficaram expostas aos visitantes florais apresentaram aumento na produção média por amostra de, aproximadamente, duas vezes (84,22%), enquanto as amostras dessa mesma cultivar cobertas pelas gaiolas e, conseqüentemente, sem contato com insetos visitantes florais, resultaram em incremento na produção por amostra na ordem de três vezes (202,52%) (Tabela 1). Ao se considerar o incremento nas duas cultivares em conjunto, observa-se que as amostras protegidas da visitação dos visitantes florais apresentaram produção média de 5,1131g. Então, observou-se um incremento de 108,26% nas amostras não protegidas, uma vez que a produção total média dessas amostras foi de 10,6489 g/amostra.

TABELA 1

Produção média de grãos em duas cultivares de soja em área com livre visitação de insetos (sem *voil*) e área protegida de visitação de insetos (com *voil*)

Terço da planta	CULTIVARES	Massa de Grãos		Incremento
		Com <i>Voil</i>	Sem <i>Voil</i>	% na produção
INFERIOR	Intacta	5,2905	7,1034 <sup>ns</sup>	45,73
	Potência	1,1297	2,9970 *	165,29
	TOTAL	3,2101	5,0502 *	57,32
MÉDIO	Intacta	9,2987	20,0601 *	115,73
	Potência	2,4318	9,1171 *	274,91
	TOTAL	5,8652	14,5886 *	148,73
SUPERIOR	Intacta	9,8554	17,8706 *	81,32
	Potência	2,6726	6,7454 *	152,39
	TOTAL	6,2640	12,3080 *	96,48
TOTAL	Intacta	8,1482	15,0114 *	84,22
	Potência	2,0780	6,2865 *	202,52
	Total	5,1131	10,6489 *	108,26

\* Diferença significativa pelo teste t de Student com significância de 1% de probabilidade entre os tratamentos (com *voil* e sem *voil*). <sup>ns</sup> Diferença não significativa pelo teste t de Student com significância de 1% de probabilidade entre os tratamentos (com *voil* e sem *voil*)

A produção de grãos pelos terços das plantas também apresentou diferença entre os dois tratamentos (com e sem *voil*) estudados. Em todas as avaliações realizadas, detectaram-se diferenças significativas nos três terços analisados para o incremento da produção de grãos nas amostras abertas, onde houve a presença de insetos visitantes florais (Tabela 1).

Na cultivar Bt houve um aumento de 45,73% no terço inferior (porém, sem significância estatística), 115,73 % no terço médio e 81,32% no terço superior (ambos com significância estatística no nível de 1% de probabilidade). O terço médio e o superior corresponderam a 79,07% da produção das plantas cobertas com as gaiolas e 84,19% da produção das plantas expostas aos visitantes florais. Na cultivar não Bt também houve diferença significativa na produção de grãos nos terços das plantas expostas aos visitantes florais. No terço inferior houve um aumento de 165,29%, enquanto que no terço médio o aumento foi de 274,91 e no superior foi detectado

incremento na produção de 152,39%. Nessa mesma cultivar também houve predominância na produção nos terços superiores e médio, que corresponderam a 81,87% da produção nas plantas cobertas com as gaiolas e 84,10% na produção das plantas expostas aos visitantes florais (Tabela 1).

O incremento no número de vagens na cultivar Intacta foi da ordem de 45,72% (de 118 vagens/repetição na área coberta para 171,96 vagens na área aberta), e 101,25% (de 70 vagens no tratamento com *voil* para 140,88 vagens no tratamento sem *voil*) na cultivar Potência (Tabela 2). Ao se considerar o incremento na produção de vagens nas duas cultivares em conjunto, observa-se que as amostras protegidas da visitação dos visitantes florais apresentaram produção média de 188 vagens por amostra. Então, observou-se um incremento de 66,40% nas amostras não protegidas, uma vez que a produção total média dessas amostras foi de 53,13 vagens/amostra.

Ao analisar a produção de vagens em relação aos terços das plantas, percebe-se que, pelo menos, 80% das vagens encontram-se nos terços superiores e médios (Tabela 2). De maneira geral, houve um incremento no número de vagens produzidas, em todos os terços amostrados nas plantas, nas repetições da área aberta. No terço médio observaram-se os maiores incrementos na produção de vagens nos tratamentos com *voil*. Na cultivar não Bt, por exemplo, a variação entre os tratamentos foi de 120, 60% (de 30,48g/repetição no tratamento em gaiolas para 67,24g/repetição no tratamento sem gaiolas) (Tabela 2).

TABELA 2

Número médio de vagens e altura de plantas em duas cultivares em área com livre visitação de insetos (sem *voil*) e área protegida de visitação de insetos (com *voil*)

Terço da planta	CULTIVARES	Número de vagens		Incremento	Altura de plantas	
		Com <i>Voil</i>	Sem <i>Voil</i>	% na produção	Com <i>Voil</i>	Sem <i>Voil</i>
INFERIOR	Intacta	23,4	27,8 <sup>ns</sup>	18,80	-	-
	Potência	10,24	26,56 *	159,37	-	-
	TOTAL	17	27,76 *	61,59	-	-
MÉDIO	Intacta	46,6	80,16 *	72,01	-	-
	Potência	30,48	67,24 *	120,60	-	-
	TOTAL	38,94	74,82 *	91,22	-	-
SUPERIOR	Intacta	48 b	64 *	33,33	-	-
	Potência	29,28	47,08 *	60,79	-	-
	TOTAL	39,40	56,78 *	39,85	-	-
TOTAL	Intacta	39,33	57,32 *	45,72	102,28	111,37 *
	Potência	24,22	48,10 *	101,25	86,90	92,24 *
	Total	31,78	53,12 *	66,40	94,59	101,80 *

\* Diferença significativa pelo teste t de Student com significância de 1% de probabilidade entre os tratamentos (com *voil* e sem *voil*). <sup>ns</sup> Diferença não significativa pelo teste t de Student com significância de 1% de probabilidade entre os tratamentos (com *voil* e sem *voil*)

Quando comparada as alturas das plantas, na cultivar Bt houve um aumento de 9,09 cm/planta (102,28 cm/planta no tratamento com *voil* para 111,37 cm/planta no tratamento sem *voil*) com uma média de 94,59 cm nas plantas das duas cultivares com *voil* e de 101,80 cm nas plantas sem *voil*. Na cultivar não Bt a diferença foi menor, com aumento de 5,34 cm/planta (86,90 cm/planta no tratamento com *voil* para 92,24 cm/planta no tratamento sem *voil*) (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

Durante o período de floração foi coletado grande número de insetos visitantes florais, o que indicou haver uma significativa diversidade desses insetos pertencentes,

principalmente, às ordens Hymenoptera, Diptera e Coleoptera. Esses visitantes florais foram encontrados em semelhante abundância em ambas as cultivares estudadas. Portanto, a composição de espécies dos insetos visitantes florais no tratamento aberto não interferiu nos resultados obtidos sobre a produção quando comparadas as duas cultivares estudadas.

A área aberta com os visitantes florais apresentou aumento na produção de grãos de forma significativa ( $p \leq 0,05$ ), quando comparada com a área fechada, na qual as flores não tiveram contato com os visitantes florais. Na área aberta houve um incremento considerável na produção das duas cultivares. Este aumento observado é maior do que o encontrado por Moreti (1998) que observou aumento de 58,58% com a cultivar IAC 14 e, também, maior que o citado por Chiari et al. (2005) que obtiveram aumento de 61,38% na cultivar BRS 133. Esse expressivo aumento observado nesta pesquisa na área com a visitação livre de visitantes florais pode ser resultante do elevado número de insetos polinizadores presentes, uma vez que houve a instalação de colmeia de *A. mellifera* próxima da área amostral para que ocorresse efetivo incremento desses insetos na área amostral.

Mesmo a soja sendo uma cultura com elevado índice de autopolinização (Milfont et al., 2013) e não dependente de polinização biótica para sua produção, os resultados de incremento na produção proporcionado pela polinização entomófila, permitem confirmar a importância e eficiência dos visitantes florais para essa cultura. Os primeiros estudos realizados nessa linha de pesquisa (Piper e Morse 1910; Woodhouse e Taylor, 1913; Milum, 1940; Rubis, 1970) consideram a soja uma espécie autógama e que não se beneficiaria da presença de polinizadores. Porém, estudos recentes mostram que as plantas autoférteis têm significativo aumento na produção de frutos e sementes, quando sua autopolinização é auxiliada por animais (Klein et al. 2003; Rizzardo et al. 2012), o que ficou explicitamente demonstrado com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Com relação à produção de grãos nos diferentes terços das plantas, os terços médios e superiores se destacaram nas duas cultivares, pois apresentaram maior produção e maior incremento na produção de grãos no tratamento aberto aos visitantes florais. O aumento observado na produção nessas regiões das plantas que foram visitadas pelos visitantes florais é devido a essas partes da planta apresentarem naturalmente maior produção e, possivelmente, por terem as flores mais visitadas pelos insetos polinizadores do que as flores do terço inferior.

Os números médios de vagens por amostra no âmbito de cada tratamento (plantas protegidas e plantas abertas) tiveram elevada diferença entre si. As plantas em área aberta suportaram significativamente mais vagens do que aquelas plantas na área fechada. A principal diferença entre os tratamentos quando analisado o número de vagens foi na cultivar Potência que apresentou considerável incremento no número de vagens na área aberta, apontando o importante papel dos visitantes florais para a recuperação das plantas atacadas pelas lagartas, o que foi detectado nessa cultivar. Esse incremento no número de vagens nas plantas visitadas pelos insetos foi significativamente menor na cultura Bt, a qual mostrou aumento em menor escala na produção, possivelmente pelo fato dessa cultivar não apresentar suscetibilidade ao ataque de lagartas desfolhadoras.

Apesar do fator altura de plantas ter resultado em pequena diferença entre os tratamentos com e sem *voil*, essa diferença denotou ser estatisticamente significativa. O tratamento sem *voil* resultou em valores superiores ao tratamento com *voil* em ambas as cultivares e, também, o mesmo foi observado quando se analisou o total de plantas das duas cultivares. Provavelmente, essa diferença deveu-se pelo encobrimento das plantas com as estruturas de *voil*, o que deve ter reduzido, ainda que minimamente, a ocorrência dos raios solares nas plantas. Sabe-se que os ecossistemas são supridos com energia de uma fonte externa, geralmente o sol, e essa fonte de energia afeta o desenvolvimento das plantas (Monteith, 1972).

Aparentemente, alguns visitantes florais podem ajudar a colocar ou distribuir melhor os grãos de pólen sobre a superfície do estigma (Yoshimura, 2011), o que pode aumentar a produção de grãos ou melhorar a qualidade dos grãos produzidos. O papel dos visitantes florais no estabelecimento de mais ou melhores grãos ou sementes em flores autopolinizadas já foi demonstrado em outras espécies de plantas (Barret et al., 1994; Cruz et al., 2005), e, recentemente, foi verificada associações positivas de frutas e grãos em dezenas de culturas em todo o mundo, em conjunto com a visita das flores por insetos selvagens (Garibaldi et al., 2013), o que demonstra que a polinização por abelhas introduzidas, como no caso de *A. mellifera*, tem complementado a polinização por insetos nativos.

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, fica clara a necessidade de identificar os polinizadores nativos e os introduzidos na cultura da soja, a fim de se adotar práticas adequadas de manejo visando a preservação e o aumento das populações dos visitantes florais. Dentre essas práticas, é fundamental o uso de pesticidas seletivos,

realizar a aplicação de inseticidas químicos apenas quando as pragas atingirem o nível de controle e, ainda, evitar a pulverização de inseticidas durante o período de florescimento, e assim garantir a presença desses insetos nas plantações e melhorar a produtividade quando comparados com áreas com deficiência de visitantes florais, o que foi representado neste experimento pela área fechada.

## REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. 2009. Agriannual: Anuário da agricultura brasileira. 12. ed. São Paulo: IFNP. 516p. (2015).
- ANDOW D. 2008. The risk of resistance evolution in insects of transgenic insecticidal crops. *Collection of Biosafety Reviews*, 4:142-199.
- BARRET SCH, HARDER LD, COLE WW. 1994. Effects of flower number and position on self-fertilization in experimental populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology*, 8:526-535.
- CARLSON JB. 1973. Morphology. In: CALDWELL BE. (Ed.). Soybeans: improvement, production and uses. Madison: American Society of Agronomy. p. 17-95.
- CHARLES JF, NIELSEN-LEROUX C.; DELECLUSE, A. 1996. *Bacillus sphaericus* toxins: Molecular biology and mode of action. *Annual Review of Entomology*, 41:451-472.
- CHIARI WC, TOLEDO VDAAD, RUVOLO-TAKASUSUKI MCC, OLIVEIRA AJBD, SAKAGUTI ES, ATTENCIA VM, COSTA FM, MITSUI MH. 2005. Pollination of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill by honeybees (*Apis mellifera* L.). *Brazilian Archives Biological Technology*, 48:31-36
- CHIARI W C. 2005. Floral biology and behavior of Africanized honeybees *Apis mellifera* in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Brazilian Archives Biological Technology*, Curitiba, 48: 367-378.
- CRUZ DO, FREITAS BM, SILVA LA, SILVA EMS, BOMFIM IGA. 2005. Pollination efficiency of the stingless bee *Melipona subnitida* on greenhouse sweet pepper. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40:1197-1201
- CTNBIO. 2010. COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. Liberação comercial de soja MON 87701 x MON 89788, que confere resistência a

insetos e tolerância a herbicida, bem como todas as progênies dela provenientes, concluiu pelo DEFERIMENTO, nos termos deste parecer técnico n. 2.542/2010. Brasília.

EMRAPA. 2005. BRS Carnaúba, nova cultivar de soja para a região Norte e Nordeste do Brasil. Comunicado Técnico 180. Embrapa- Meio Norte, Teresina.

EMBRAPA. 2015. Soja em números, safra 2014/1015. Comunicado Técnico. Embrapa- Soja, Londrina. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em 12 jan. 2016.

FREE JB. 1993. Insect pollination of crops, 2nd edn. University Press, Cardiff.

FREITAS BM. 1997. Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. Revista Brasileira de Biologia, São Carlos, 57:289-294.

GARIBALDI LA, STEFFAN-DEWENTER I, WINFREE R, AIZEN MA, BOMMARCO R, CUNNINGHAM AS, KREMEN C, CARVALHEIRO LG, HARDER LD, AFIK O, BARTOMEUS I, BENJAMIN F, BOREUX V, CARIVEAU D, CHACOFF NP, DUDENHOFFER JH, FREITAS BM, GHAZOUL J, GREENLEAF S, HIPÓLITO J, HOLZCHUH A, HOWLETT B, ISAACS R, JAVOREK SK, KENNEDY CM, KREWENKA K, KRISHNAN S, MANDELIK Y, MAYFIELD MM, MOTZKE I, MUNYULI T, NAULT BA, OTIENO M, PETERSEN J, PISANTY G, POTTS SG, RADER R, RICKETTS TA, RUNDLOF M, SEYMOUR CL, SCHUEPP C, SZENTGYO-RGYI H, TAKI H, TSCHARNTKE T, VERGARA CH, VIANA BF, WANGER TC, WESTPHAL C, WILLIAMS N, KLEIN AM. 2013. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honeybee abundance. Science, 339:1608-1611.

HOFTE H, WHITELEY HR. 1989. Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. Microbiological Reviews, 53/2:242-255.

HILDER VA, BOULTER D. 1999. Genetic engineering of crop plants for insect resistance a critical review. Crop Protection, 18:177-191.

JENKINS JL, LEE MK, SANGADALA S, ADANG MJ, DEAN DH. 1999. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin to *Manduca sexta* aminopeptidase-N receptor is not directly related to toxicity. FEBS Letters. 462: 373-376.

- JUSTINIANO W, FERNANDES MG, VIANA CLTP, FONSECA PRB. 2014. Intacta RR2PRO (MON87701 x MON89788) for Management of the Main Target and Non-Target Insects in Soybeans. *Journal of Agricultural Science*, 6:33-44.
- KLEIN AM, STEFFAN-DEWENTER I, TSCHARNTKE T. 2003. Bee pollination and fruit set of *Coffea arabica* and *C. canephora* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, 90:153-157
- MCGREGOR SE. 1976. Insect pollination of cultivated crop-plants. U.S.D.A. Agriculture Handbook, 496:93-98. Version with some updated information for some crop species available: <http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/>.
- MILFONT MO, ROCHA EEM, LIMA AON, FREITAS BM. 2013. Higher soybean production using honeybee and wild polinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental Chem Letters*, 11:335-341.
- MILUM VG. 1940. Bees and soybeans. *American Bee Journal*, Hamilton, 80:22.
- MONSANTO. 2011. Maximizing soybean yield potential. Agronomic spotlight. Monsanto technology development. Disponível em: [/http://www.renkseed.com/Portals/0/Agronomic%20Spotlight%20-%2b0Maximizing%20Soybean%20Yield%20Potential.pdf](http://www.renkseed.com/Portals/0/Agronomic%20Spotlight%20-%2b0Maximizing%20Soybean%20Yield%20Potential.pdf). Accessed Jan 2016.
- MONTEITH JL. 1972. Solar radiation in productivity in tropical ecosystems. *Journal of Applied Ecology*, 9:747-766.
- MORETI ACCC. 1998. Observações sobre a polinização entomófila da cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Boletim da Industria Animal, Nova Odessa*, 55:91-94.
- NOGUEIRA-COUTO RH. 1994. Polinização com abelhas africanizadas. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 1., 1994, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia Ciências e Letras. 101-117.
- NOGUEIRA-COUTO RH. 1998. Manejo das colméias de abelhas africanizadas para polinização. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12, 1998, Salvador. Anais. Salvador: Confederação Brasileira de Apicultura. 129-134.
- PIPER CV, MORSE WJ. 1910. The soybean: history, varieties and field studies. USDA Plant Ind. Bull., Urbana, 197:1-84.
- RIZZARDO RAG, MILFONT MO, SILVA EMS, FREITAS BM. 2012. *Apis mellifera* pollination improves agronomic productivity of anemophilous castor bean (*Ricinus communis*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84:605-608
- RUBIS DD. 1970. Breeding insect pollinated crops. Arkansas Agriculture Extension Service, Little Rock, 127:19-24.

- SANKULA S. Crop Biotechnology in the United States: Experiences and impact.. In: Halford, N. G. (Ed.) Plant Biotechnology. John Wiley & Sons Ltda, 29-52, 2006.
- SHARMA HC, SHARMA KK, SEETHARAMA N, ORTIZ R. 2000. Prospects for using transgenic resistance to insects in crop improvement. Electronic Journal of Biotechnology, 3/2:1-26.
- USSEC. 2008. How the global oilseed and grain trade works. USSEC, Saint Louis.
- YOSHIMURA Y. 2011. Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. Journal of Plant Research, 124:109-114
- YU HL, YUN HL, KONG MW. 2011. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. Journal of Integrative Plant Biology, 53:520-538.
- WILLIAMS IH. 1991. Beekeeping, wild bees and pollination in the European community. Bee World, Cardiff, 72:170-180.
- WOODHAUSE EJ, TAYLOR CS. 1913. The varieties of soybeans found in Bengal, Bihar and Orissa and their commercial possibilities. Mem. Dep. Agric. India, Bot. Ser., Calcutta, 5:103-175.