

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

**EFEITOS DE BIOTECNOLOGIAS DE MILHO (*Zea mays*
L.) NA ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE
ARTRÓPODES**

Maria Freire de Sousa

Dourados-MS
Fevereiro-2019

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

Maria Freire de Sousa

**EFEITOS DE BIOTECNOLOGIAS DE MILHO (*Zea mays* L.) NA
ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE ARTRÓPODES**

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Dourados-MS
Fevereiro-2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S725e Sousa, Maria Freire De

EFEITOS DE BIOTECNOLOGIAS DE MILHO (*Zea mays* L.) NA ESTRUTURA DE
COMUNIDADES DE ARTRÓPODES [recurso eletrônico] / Maria Freire De Sousa. -- 2019.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Marcos Gino Fernandes.

Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da
Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Manejo Integrado de Pragas. 2. transgênico. 3. herbívoros não- alvo. I. Fernandes, Marcos
Gino. II. Título.

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

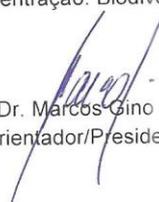
©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

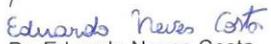
“EFEITOS DE BIOTECNOLOGIAS DE MILHO (*Zea mays* L.) Bt NA
ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE ARTRÓPODES”

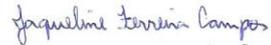
Por

MARIA FREIRE DE SOUSA

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


Dr. Marcos Gino Fernandes
Orientador/Presidente – UFGD


Dr. Eduardo Neves Costa
Membro Titular – PNPd/UFGD


Dr.ª Jaqueline Ferreira Campos
Membro Titular – UFGD


Dr. Paulo Rogério Beltramin da Fonseca
Membro Titular – UFAM


Dr.ª Rosilda Mara Mussury Franco Silva
Membro Titular – UFGD

Aprovada em: 26 de fevereiro de 2019.

Biografia do Acadêmico

Maria Freire de Sousa, filha de José Pereira de Souza e Jesuíta Freire de Souza, nasceu na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no dia 19 de outubro de 1988.

Cursou o Ensino Fundamental na Escola Estadual Armando da Silva Carmelo tendo concluído em 2003, deu início ao 1º ano do Ensino Médio nesta mesma escola, mas completou o mesmo na Escola Estadual Menodora Fialho de Figueiredo tendo concluído em 2006.

Em março de 2009, ingressou no curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, concluindo-o em 2013.

Durante a Graduação participou de três iniciações científicas, sendo um projeto como voluntária na área da educação com o livro didático: O conteúdo de Química no enredo dos Livros Didáticos do Ensino Fundamental; e em outros dois outros projetos com Plantas Geneticamente Modificadas e Controle Biológico. O primeiro projeto foi financiado pela Fundect (Interações tritróficas entre plantas de algodão Bt, o fitófago *Aphis gossypii* Glover e o predador *Chrysoperla externa*). O segundo projeto foi financiado pelo CNPq (Interação Triterófica dos Parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Cotesia flavipes* Cam em Milho Geneticamente Modificado Resistente a Insetos).

Em março de 2013 iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, defendendo a dissertação em março de 2015. A dissertação rendeu dois artigos sendo o primeiro artigo Intitulado “Biology of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) fed transgenic maize pollen”, publicado na revista *Florida Entomologist*. O segundo artigo intitulado Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) alimentado com pólen de milho transgênico não foi publicado.

Em março de 2015 iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS. E, durante o doutorado foi publicado mais um artigo referente ao primeiro capítulo da tese, Intitulado “Influence of Bt Maize on Diversity and Composition of Non-target Arthropod Species”, na revista *Journal of Agricultural Science*.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade a qual sem fé não conseguiria completar esta etapa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes pelo apoio, incentivo na orientação e pela confiança depositada em mim.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Vítor Cunha Gomes Sfeir, por sua eficiência e dedicação nos serviços prestados.

Ao senhor Claudio Guerra que gentilmente cedeu a área para a realização dos experimentos.

A todos os mestrandos e doutorandos do Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos, da Universidade Federal da Grande Dourados, em especial a Fabiola Oliveira, Gabrielle Masson, Rose Trindade, Thais Correa, Pablo Medeiros, e Bruna Moura pelo incentivo e apoio.

A todos os estagiários do Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos, da Universidade Federal da Grande Dourados, em especial a Fabiana Hasegawa, Leticia Zanata, Paulo Rodrigues, Milena e Amanda pelo incentivo e apoio.

Aos colegas da Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela convivência e ensinamentos.

Às colegas Jéssica Lucchetta Trilli e Ana Carla Moraes pelo apoio, incentivo e ajuda nos momentos difíceis.

Ao colega Anderson José da Silva Guimarães que se tornou um grande amigo e parceiro de trabalho, sem o qual não teria sido possível a realização dos experimentos.

À minha família, meu pai José (*in memoriam*), a minha mãe Jesuíta e ao meu irmão Jordão por todo o amor, carinho e apoio incondicional.

Aos meus padrinhos João e Cida pelo carinho e incentivo.

Aos meus amigos Rennan Oliveira Meira, Hallana Herrera, e Antônio Robis pelo carinho, força e apoio. Em especial, à minha amiga Patrícia Santos dos Reis pela amizade, carinho, apoio e ajuda nos momentos mais difíceis.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

Aos meus pais José (*in memoriam*) e Jesuíta

Que me educaram com muito amor

Aos quais devo tudo que sou.

Dedico

Sumário

Efeitos de biotecnologias de milho (*Zea mays* L.) Bt na estrutura de comunidades de artrópodes

Resumo geral.....	1
General abstract.....	3
Introdução geral.....	5
Revisão bibliográfica.....	7
Objetivo geral.....	16
Objetivos específicos.....	17
Hipótese.....	18
Referências bibliográficas.....	19
Capítulo I. Influência do milho Bt na diversidade e composição de espécies artrópodes alvo e não-alvo	
Resumo.....	29
Abstract.....	30
Introdução.....	31
Material e Métodos.....	32
Resultados.....	34
Discussão.....	40
Agradecimentos.....	42
Referências.....	42
Capítulo II. Dinâmica populacional de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), demais herbívoros e predadores em cultivares de milho Bt e convencional	
Resumo.....	49
Abstract.....	50
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	53
Resultados.....	56
Discussão.....	61
Agradecimentos.....	64
Referências.....	64
Considerações Finais.....	75

EFEITOS DE BIOTECNOLOGIAS DE MILHO (*Zea mays* L.) NA ESTRUTURA DE COMUNIDADES DE ARTRÓPODES

Resumo Geral

A área cultivada com transgênicos tem aumentado exponencialmente, o que torna os transgênicos a tecnologia agrícola mais adotada na história moderna. No entanto, as culturas Bt podem apresentar efeitos diretos e indiretos sob os organismos não-alvo. O objetivo geral, deste trabalho, foi avaliar quatro cultivares de milho, sendo uma convencional e três transgênicas (Bt) e seus efeitos sobre organismos alvo e não-alvo. Foram avaliados quatro campos diferentes com as seguintes cultivares comerciais de milho transgênico: EXP3320YG (Monsanto, EUA) expressando Cry1Ab, MG600PW (Monsanto, EUA e Dow Agrosiences, EUA) expressando Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F ambas conferindo resistência a Lepidoptera *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) com ciclo precoce; e AG9030VTpro3 (Monsanto, EUA) expressando Cry1A.105+ Cry2Ab2+Cry3Bb1 que confere resistência a Lepidoptera *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Bodie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e Coleoptera *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) com ciclo super-precoce. Também foi avaliado um quarto campo com a cultivar convencional SW5560 (sem expressão da proteína transgênica), que possui ciclo precoce. Em cada um dos quatro campos foram amostradas 50 plantas (unidades amostrais) com periodicidade semanal, totalizando de 15 avaliações. Foi realizado o registro visual do número de espécimes de artrópodes. Atribui-se notas visuais seguindo uma escala com variação entre 0 e 9 de Davis & Williams (1989) para verificar a intensidade dos danos foliares provocados por *S. frugiperda* e também avaliou-se visualmente o tamanho das lagartas e as posturas de *S. frugiperda* em cada uma das áreas. Os índices de Shannon-Wiener e Simpson, que comparam a diversidade de espécies em diferentes ambientes, indicaram que a cultivar MG600PW apresentou maior diversidade de insetos não-alvo do que as demais, enquanto EXP3320YG resultou em baixa diversidade durante todo o ciclo da cultura. A cultivar EXP3320YG apresentou as notas mais altas de dano, enquanto as cultivares MG600PW e AG9030VTpro3 apresentaram as menores notas de dano. A cultivar EXP3320YG apresentou o maior número de herbívoros (651) e o menor número de predadores (51), e a cultivar MG600PW apresentou o menor número de herbívoros (211) e o maior número de predadores (161). Os resultados demonstram que as cultivares avaliadas apresentaram diferenças em relação ao ataque de *S. frugiperda*,

sendo que a cultivar EXP3320YG apresentou as maiores notas de danos, demonstrando que esta praga adquiriu resistência a toxina Cry1Ab.

Palavras-chave: Manejo Integrado de Pragas, transgênico, herbívoros não- alvo

EFFECTS OF MAIZE BIOTECHNOLOGIES (*Zea mays* L.) ON THE STRUCTURE OF ARTHROPOD COMMUNITIES

General Abstract

The area planted with transgenics has increased exponentially, which makes transgenics the most adopted agricultural technology in modern history. However, Bt crops may have direct and indirect effects under non-target organisms. The overall objective of this work was to evaluate four maize cultivars, one conventional and three transgenic (Bt) and their effects on target and non-target organisms. Four different fields were evaluated with the following commercial cultivars of GM maize: EXP3320YG (Monsanto, USA) expressing Cry1Ab, MG600PW (Monsanto, USA and Dow Agrosiences, USA) expressing Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F both conferring resistance to Lepidoptera *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) with early cycle; and AG9030VTpro3 (Monsanto, USA) expressing Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry3Bb1 conferring resistance to Lepidoptera *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Bodie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) and Coleoptera *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) super-precocious. We also evaluated a fourth field with the conventional cultivar SW5560 (without expression of the transgenic protein), which has an early cycle. In each of the four fields were sampled 50 plants (sample units) with weekly frequency, totaling 15 evaluations. The visual record of the number of arthropod specimens was performed. Visual notes were assigned following a scale ranging from 0 to 9 by Davis & Williams (1989) to verify the intensity of foliar damage caused by *S. frugiperda* and the size of caterpillars and *S. frugiperda* postures were also evaluated visually in each of the areas. The Shannon-Wiener and Simpson indices, which compare species diversity in different environments, indicated that the cultivar MG600PW showed a greater diversity of non-target insects than the others, while EXP3320YG resulted in low diversity throughout the crop cycle. The cultivar EXP3320YG showed the highest damage, while the cultivars MG600PW and AG9030VTpro3 showed the lowest damage. The cultivar EXP3320YG showed the highest number of herbivores (651) and the lowest number of predators (51), and the cultivar MG600PW presented the lowest number of herbivores (211) and the highest number of predators (161). The results showed that the evaluated cultivars presented

differences in relation to the attack of *S. frugiperda*, and the cultivar EXP3320YG presented the highest damages, demonstrating that this pest acquired resistance to Cry1Ab toxin.

Keywords: MIP, transgenic, non-target herbivores

INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade de alimentar a crescente população mundial faz com que seja necessária a utilização de novas técnicas de cultivos para o aumento da produção. Nesse cenário, se encontram as plantas que expressam as proteínas da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), tornando-se uma importante ferramenta no Manejo Integrado de Pragas.

A área com cultivos transgênicos chegou a 189,8 milhões de hectares no mundo em 2017, tornando-se, recentemente, a tecnologia de mais rápida adoção. As principais cultivares transgênicas no mundo são a soja (94,1 milhões de hectares), seguida do milho (59,7 milhões de hectares), algodão (24,1 milhões de hectares) e a canola (10,2 milhões de hectares). O Brasil possui 50,2 milhões de hectares cultivados com cultivares transgênicas; soja com 33,7 milhões de hectares, milho com 15,60 milhões de hectares e algodão com 0,94 milhões de hectares (ISAAA, 2017).

Os inimigos naturais desempenham importante papel no desenvolvimento dos cultivos agrícolas transgênicos, pois estes regulam as populações de insetos pragas nas culturas utilizando como hospedeiros ovos, lagartas, pupas e adultos de insetos (PEREIRA et al., 2008a, 2008b; ZANUNCIO et al., 2008).

Devido ao importante papel que os inimigos naturais desempenham nos agroecossistemas, tem se discutido quais os efeitos que as plantas geneticamente modificadas podem vir a causar nos organismos não-alvo, pois no campo, além das pragas, também são encontrados insetos benéficos, como predadores e parasitoides, que regulam as populações de herbívoros. Em termos ecológicos, essa hierarquia é denominada interação tritrófica, onde a planta representa o primeiro nível trófico, o inseto- praga ou a presa representa o segundo nível trófico e os inimigos naturais, o terceiro nível (DE MORAES et al., 2000).

A literatura apresenta muitas pesquisas com plantas transgênicas expressando proteínas Bt e seus efeitos sobre organismos não-alvo; alguns trabalhos afirmam que o desenvolvimento de insetos não alvo, seja predadores, parasitoides ou polinizadores, podem ser afetados (VOJTECH et al., 2005; RAMIREZ-ROMERO et al., 2007; SANDERS et al., 2007; CUNHA et al., 2012). Outros trabalhos afirmam que o desenvolvimento destes insetos benéficos não é prejudicado (DUTRA et al., 2012a, SANTANA et al., 2017, TIAN et al., 2018, YI et al., 2018). Nesse sentido, uma

crescente preocupação tem ocorrido em relação às possíveis consequências da toxina Bt em organismos não-alvo. Ademais, recentes biotecnologias de milho estão sendo liberadas no mercado, o que se torna de suma importância estudar seus efeitos ecológicos.

Assim, a presente pesquisa busca trazer informações sobre os possíveis efeitos de três tecnologias de milho Bt sobre pragas alvo da cultura e alguns herbívoros não alvo. Esta encontra-se dividida em dois capítulos, onde no primeiro capítulo foi realizado o estudo da influência do milho Bt na diversidade e composição de espécies artrópodes alvo e não-alvo e no segundo capítulo foi realizado o estudo da dinâmica populacional de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), demais herbívoros e predadores em cultivares de milho Bt e convencional.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal com maior produção mundial, sendo em 2018 produzidos globalmente 1,076.23 bilhões de toneladas. Estados Unidos, China e Brasil são os maiores produtores, representando 66% da produção mundial (USDA, 2019).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho com uma área de 17 milhões de hectares cultivados na safra de verão e na safrinha de inverno com uma produção de mais de 92 milhões de toneladas, sendo que no estado de Mato Grosso do Sul cultivada uma área de 1.817,8 milhões de hectares com uma produção de 9.335,8 toneladas (CONAB, 2019).

A partir da cultura do milho, se obtém centenas de derivados, empregados em várias indústrias, como a alimentícia (humana e animal) e química (amido, dextrina, glicose, óleo, margarina, fermento etc); a de bebidas (licores, refrigerantes, vinhos etc); de fermentação (enzimas, acetonas e outros); química e mecânica (fundição de metais, plásticos etc); e de rações (utilizado na composição de rações participando na forma de grãos moídos integralmente, farelo, gérmen, protenose e refinasil) (CARDOSO et al., 2011).

O ciclo da cultura do milho foi dividido em estádios de desenvolvimento de acordo com Richie & Hanway (1986): VE (emergência); V1 (planta com a primeira folha desenvolvida); V2 (segunda folha desenvolvida); V3 (terceira folha desenvolvida); V4 (quarta folha desenvolvida); V(n) (“n” igual ao número da folhas desenvolvidas); VT (emissão da inflorescência masculina); R1 (emissão da inflorescência feminina); R2 (grãos bolhas d’água); R3 (grãos leitosos); R4 (grãos pastosos); R5 (formação de dente) e R6 (maturidade fisiológica).

Diversos fatores podem comprometer a produção do milho, como a incidência de pragas, causando importante impacto econômico. A cultura possui um amplo espectro de pragas, sendo que várias delas ocorrem nos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas e dentre estas se destaca a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). O inseto ataca diversas espécies vegetais em diferentes famílias botânicas é considerada a principal praga da cultura do milho (POGUE, 2002; BARROS et al., 2010; LIMA JR et al., 2012). A avaliação dos danos dessa praga, normalmente, é feita através da escala Davis. A escala visual de

Davis & Williams (1989) atribui notas para a intensidade dos danos foliares provocados por *S. frugiperda*. Os danos são avaliados visualmente, com notas que variam de zero ou nenhum dano na folha, até chegar no nível máximo, nota nove, com grandes lesões e porções dilaceradas na maioria das folhas. Sendo assim as notas variam de acordo com a intensidade da desfolha que ocorre nas folhas.

Outros insetos-pragas também atacam a cultura do milho no Brasil, entre eles, têm destaque a broca-do-colmo, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e a lagarta-da-espiga do milho, *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) (FARIAS et al., 2013).

Dentre as diversas pragas que atacam a cultura do milho, os percevejos vem ganhando importância causando prejuízo econômico. O percevejo-marrom *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) e o percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) são as espécies mais importantes hoje para o sistema produtivo soja-milho (BUENO et al., 2015).

1.2 Impactos das Plantas Geneticamente Modificadas sobre inimigos naturais das pragas-chaves

Plantas geneticamente modificadas com a inserção de genes provenientes de Bt apresentam resistência a insetos e são obtidas através de uma modificação genética para a produção de uma proteína inseticida (POLANCZYK et al., 2008). A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) é um dos agentes microbianos mais estudados no controle de pragas podendo ser encontrada no solo, água, insetos mortos e algumas plantas (MONNERAT & BRAVO, 2000; MULETA et al., 2009, BRAVO et al., 2011).

O uso de plantas geneticamente modificadas traz algumas vantagens, dentre as quais podemos destacar: aumento da produção agrícola (BETZ et al., 2000); níveis menores de micotoxinas, que são compostos tóxicos produzidos por fungos (DOWD, 2000) e redução na aplicação de inseticidas (ROMEIS et al., 2006). As culturas Bt podem apresentar efeitos de maneira direta e indireta sobre os organismos não-alvo (LOVEI et al., 2009; NARANJO, 2009). Efeitos diretos podem ocorrer pela ingestão de tecidos de plantas por organismos não-alvo, já os efeitos indiretos podem ocorrer por interações multitróficas que são as diferentes inter-relações que ocorrem entre os organismos que estão presentes no ambiente (CRAIG et al., 2008).

Várias pesquisas têm sido realizadas com espécies não alvos para demonstrar os possíveis efeitos da toxina Bt sobre estes organismos, predadores, parasitoides e polinizadores. Como por exemplo, Prutz & Dettner (2004) fez testes com a toxina Cry1Ab no hospedeiro *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Crambidae), o que levou a uma redução da taxa de alimentação do mesmo, resultando na redução do sucesso de emergência do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Quando essa proteína foi purificada a partir de plantas de algodão e testada no hospedeiro *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e o parasitoide *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae), afetou o desenvolvimento do hospedeiro e do parasitoide (LIU et al., 2005a,b).

Estudo com o herbívoro não-alvo *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho Bt observou efeitos na sobrevivência, tempo de desenvolvimento e o peso das larvas de *S. littoralis*, quando o parasitoide *Cotesia marginiventris* (Cresson, 1865) (Hymenoptera: Braconidae) se desenvolveu em hospedeiros oriundos de alimentação com milho Bt teve a sobrevivência, tempo de desenvolvimento e pesos dos casulos afetados (VOJTECH et al., 2005).

Avaliações para determinar o efeito da toxina Cry1Ab no parasitoide *C. marginiventris* mediados pelo hospedeiro *S. frugiperda* através de dois experimentos, liberação de toxina purificada via dieta artificial e a liberação da toxina via tecido foliar de milho Bt. No primeiro experimento não foram verificados efeitos da toxina sobre o parasitoide. Todavia, quando Cry1Ab foi liberada via tecido foliar foram afetados o tempo de desenvolvimento, tamanho do adulto e fecundidade do parasitoide (RAMIREZ-ROMERO et al., 2007).

Testes com a toxina Cry1Ab no parasitoide *Campoletis sonorensis* (Cameron, 1886) (Hymenoptera: Ichneumonidae) mediados pelo hospedeiro *S. frugiperda* que se desenvolveu em folhas de milho transgênico e convencional, mostrou que a média do peso dos casulos foi significativamente menor quando o parasitoide se desenvolveu em hospedeiros alimentados com milho Bt, o peso dos parasitoides adultos foi significativamente menor em comparação com ambos os tratamentos de milho convencional (SANDERS et al., 2007).

Para avaliar o efeito da toxina Cry1Ab no milho sobre *Orius majusculus* (Reuter) (Heteroptera: Anthocoridae), através das folhas ou do pólen, ou através da

cadeia alimentar não teve efeitos negativos sobre a sobrevivência do predador, o desenvolvimento, a fecundidade e a fertilidade (LUMBIERRES et al., 2012).

Tian et al. (2012) fizeram avaliações com a toxina Cry1F presente no milho em *Coleomegilla maculata* (De Geer) (Coleoptera: Coccinellidae) utilizando lagartas de *S. frugiperda* resistentes à toxina. A duração da larva e o estágio de pupa, peso do adulto e fecundidade das fêmeas de *C. maculata* não diferiram quando foram alimentadas com larvas resistentes de *S. frugiperda* criadas em folhas de milho Bt ou não Bt por duas gerações.

Estudo com milho contendo a toxina Cry1F sobre o parasitoide *C. marginiventris* mediados pelo hospedeiro *S. frugiperda*, demonstrou que o milho Cry1F não afetou o desenvolvimento, parasitismo, sobrevivência, razão sexual, longevidade e a fecundidade de *C. marginiventris* quando parasita o hospedeiro *S. frugiperda* alimentado com o milho Bt (TIAN et al., 2014b).

Outra pesquisa realizada em milho com a toxina Cry1Ab sobre *Chrysoperla pudica* (Neuroptera: Chrysopidae) e a presa *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) demonstrou que o desenvolvimento larval e pupal de *C. pudica* não diferiram estatisticamente em ambos os tratamentos em que a presa se alimentou de milho Bt e não-Bt (VAN DEN BERG et al., 2017).

Testes com as toxinas Cry1Ac e Cry2Ab no algodão na biologia de *C. maculata* (De Geer) (Coleoptera: Coccinellidae) através um de bioensaio tritrófico com larvas sensíveis a Bt e resistentes de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (Lepidoptera: Noctuidae) como presa mostra que a sobrevivência de *C. maculata*, o tempo de desenvolvimento, o peso do adulto e a fecundidade não diferiram quando foram alimentados com larvas de *T. ni* resistentes desenvolvidas em algodão Bt e controle (LI et al., 2011). Essa mesma toxina Cry1Ac + CpTI presente no pólen de algodão sobre *Haptoncus luteolus* (Coleoptera: Nitidulidae), em avaliações de campo e laboratório não detectou efeitos diretos significativos do pólen do algodão neste coleóptero (CHEN et al., 2011).

Análises da ação da toxina Cry1Ac no algodão sobre o predador *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae), mediados pelo hospedeiro *S. frugiperda* que se alimentou de plantas de algodão Bt, causou a ruptura da matriz perimicrovilar de *P. nigrispinus* (terceiro nível trófico), causando alterações ultra-estruturais nas células digestivas como o alongamento das microvilosidades, presença de esferocristais e grânulos de diferentes densidades de elétrons, e mudanças no padrão

de distribuição de glicogênio, lipídios e cálcio nestas células no intestino médio (CUNHA et al., 2012).

Exame da riqueza e diversidade de formigas edáficas e coleópteros em campos de algodão Bt e não Bt mostra que a riqueza e a diversidade foram maiores nas áreas de algodão não Bt do que na área Bt, já a riqueza de espécies de besouros não diferiram significativamente entre os dois tratamentos (DUTRA et al., 2013).

Ensaio realizado com o algodão expressando Cry1Ac/Cry2Ab e Cry1Ac em *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) para avaliar a transmissão de Cry1Ac na cadeia alimentar e os efeitos da toxina Bt no predador *P. japonica* através de sua presa *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae), mostra que foram detectadas pequenas quantidades de proteínas nas presas que se alimentaram de algodão Bt e no predador que se alimentou de presas que haviam se alimentado do algodão Bt. No entanto, não houve diferenças no desenvolvimento total, mortalidade, peso dos adultos recém- emergidos, ou fecundidade dos predadores alimentados com pulgões Bt ou não Bt. Um atraso no desenvolvimento foi observado quando *P. japonica* foi alimentada *A. gossypii* mantido em ambos os algodões Bt. Estes resultados sugerem que a proteína Cry1Ac expressa nestas plantas de algodão transgênicas podem ser transmitidas aos seus predadores através de suas presas herbívoras, porém estas não afetam a sua biologia (ZHAO et al., 2013).

Segundo Azimi et al. (2014) os efeitos do algodão transgênico sobre o parasitoide *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) mediados pelo hospedeiro *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), demonstraram que os parâmetros da biologia do parasitoide como tempo de desenvolvimento do pré-adulto, o período de pré-oviposição total e o período de pré-oviposição do adulto foram significativamente maior no algodão Bt em relação ao algodão não Bt. A fecundidade e o tamanho do corpo foram afetados significativamente. Todos os parâmetros da população foram afetados pelo algodão Bt.

Estudo com a toxina Cry1Ac/Cry2Ab em algodão sobre *Thrips tabaci* Lindeman, 1888 (Thysanoptera: Thripidae) e o predador *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Hemiptera: Anthocoridae) avaliou os parâmetros da biologia de *O. insidiosus*. A sobrevivência, o tempo de desenvolvimento das ninfas, peso do adulto, período de pré-oviposição, período de pós oviposição, fecundidade e longevidade dos adultos de *O. insidiosus* não foram afetados negativamente devido ao consumo de larvas de *T. tabaci*

que haviam se alimentado em algodão BG-II em comparação com algodão não-Bt. Os resultados indicam que *O. insidiosus*, um predador comum de *T. tabaci*, não é prejudicado pelo algodão BG-II quando exposto as proteínas Bt através de sua presa (KUMAR et al., 2014).

Outra investigação com as toxinas Cry1Ac/Cry2Ab em algodão e Cry1F em milho sobre *Geocoris punctipes* (Say, 1832) (Hemiptera: Geocoridae) e *O. insidiosus* observou os efeitos das três toxinas *cry* sobre os parâmetros biológicos dos predadores por duas gerações através de sua presa. A sobrevivência, o desenvolvimento, a massa do adulto, a fecundidade e a fertilidade foram semelhantes quando os predadores consumiram larvas que se alimentaram de algodão com Cry1Ac/Cry2Ab e Cry1F em milho em comparação com a presa que se alimentou de algodão ou milho convencional (TIAN et al., 2014a).

Avaliando efeito da toxina Cry1Ac+CpTI no algodão sobre a biologia de *Ferrisia virgata* (Cockerell) (Hemiptera: Pseudococcidae) que se desenvolveu em plantas de algodão transgênico e convencional e em seguida foi avaliada a biologia do predador *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) que se alimentou de presas que haviam se desenvolvido em plantas de algodão transgênico e convencional. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros do predador *C. montrouzieri* oferecido a *F. virgata* criados em plantas de algodão transgênico e convencional. Cry1Ac e CPTI foram detectadas nas folhas de algodão transgênicos, mas não há níveis detectáveis de ambas as proteínas na cochonilha ou no seu predador (WU et al., 2014).

Analisando as toxinas Cry1Ac/Cry2Ab no algodão e Cry1F em milho sobre os parâmetros da biologia de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) que se desenvolveu em folhas de algodão e milho Bt e não Bt e posteriormente a biologia do ácaro predador *Amblyseius andersoni* Chant (Acari: Phytoseiidae) que se desenvolveu em *T. urticae* que havia se alimentado de folhas de algodão e milho Bt e não Bt. O estudo não indicou efeitos negativos na biologia de *T. urticae* e *A. andersoni* (GUO et al., 2016).

Efeitos do algodão transgênico sobre os parasitoides *C. marginiventris* e *Copidosoma floridanum* (Ashmead) (Hymenoptera: Encyrtidae) mediados pelo hospedeiro *T. ni* com algodão expressando a proteína Cry1Ac/Cry2Ab e sua isolinha não transgênica. Os resultados demonstram que não houve impacto significativo no

desenvolvimento, sucesso do parasitismo, sobrevivência e longevidade do adulto de *C. marginiventris* usando *T. ni* resistente ao Bt e alimentada com algodão Bt. O algodão Bt também não demonstrou impacto significativo no desenvolvimento, peso do casulo e número de progênes produzidas por *C. floridanum* (TIAN et al., 2018).

Bioensaios com a toxina Cry1Ac em soja sobre o parasitoide *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) mediados pelo hospedeiro *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), demonstraram que as características biológicas de *S. eridania* foram similares quando alimentadas com soja Bt e não Bt. O mesmo acontece em relação aos parâmetros biológicos de *T. remus* que não apresentou diferenças entre os tratamentos Bt e não Bt (BORTOLOTTI et al., 2014).

Outro estudo com esta mesma toxina em soja sobre o parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) mediados pelo hospedeiro *Euschistus heros* (Fabricius, 1794) (Hemiptera: Pentatomidae), demonstraram que esta cultivar não afeta o tempo de desenvolvimento e a sobrevivência dos estágios ninfais de *E. heros* bem como o peso, tamanho do pronoto, razão sexual e fecundidade dos adultos e a viabilidade dos ovos não diferiram entre os tratamentos Bt e não Bt. As sojas Bt e não-Bt não apresentaram impacto sobre o desenvolvimento do parasitoide de ovos *T. podisi*. A porcentagem e a viabilidade do parasitismo, o período de ovo a adulto, a razão sexual e a longevidade das fêmeas de *T. podisi* não diferiram entre os tratamentos (SILVA et al., 2014).

Estudo com a toxina Cry1Ac em brócolis sobre *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) observa os efeitos da toxina sobre os parâmetros biológicos do predador *C. maculata* por duas gerações através de sua presa *P. xylostella*. O período larval e pupal, o peso do adulto e a fecundidade de cada fêmea não foram significativamente diferentes quando as larvas de *C. maculata* foram alimentadas com diferentes genótipos (Bt-resistentes ou suscetíveis) de larvas de *P. xylostella* criadas em plantas de brócolis Bt e não Bt. Os parâmetros da geração subsequente de *C. maculata* alimentadas com *P. xylostella* resistente aos brócolis Bt também não foi significativamente diferente comparadas àquelas alimentadas com brócolis não Bt (LIU et al., 2015).

Pesquisas com as proteínas Cry1C/Cry2A em arroz sobre o parasitoide *Pseudogonatopus flavifemur* (Hymenoptera: Dryinidae) mediados pelo hospedeiro *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae), demonstraram que o arroz transgênico não

afetou o desenvolvimento, a sobrevivência, a longevidade, a fecundidade e o consumo de presas por *P. flavifemur* ao longo de duas gerações nos tratamentos com arroz Bt e não- Bt (TIAN et al., 2017).

1.3 Impactos das Plantas Geneticamente Modificadas sobre insetos polinizadores

Lima et al. (2013) testou os possíveis efeitos da toxina Cry1Ac presente no algodão em larvas de *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera: Apidae). Os testes mostraram que a ingestão da toxina Cry1Ac não afetou o desenvolvimento das larvas de operárias, mas a dieta diluída aumentou ligeiramente a mortalidade larval. Estes resultados indicam que os efeitos nocivos em larvas de abelhas sem ferrão devido à ingestão da toxina Cry1Ac expressa no pólen é improvável em condições de campo.

Hendriksma et al. (2011) avaliaram pólen de milho expressando uma e três proteínas e o controle com pólen de milho convencional e de *Heliconia rostrata* na sobrevivência das larvas e no peso das pré-pupas de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). A sobrevivência das larvas e o peso das pré-pupas não demonstrou efeitos. Em contraste, a alimentação com o pólen de *H. rostrata* causou efeitos tóxicos significativos. Os resultados deste estudo indicaram que o pólen das variedades Bt não prejudicou o desenvolvimento das larvas de *A. mellifera* criadas *in vitro*.

Estudos realizados em campo em que foi avaliada a riqueza e composição de espécies de visitantes florais em algodoeiro Bt e não- Bt demonstrou que a riqueza de espécies variou entre os horários de coleta para ambos os tratamentos, entre os dias de floração, no início e no final da floração, constatou-se a menor riqueza independentemente da cultivar de algodão. Contudo, a riqueza não variou entre as cultivares de algodão. Em relação à composição das espécies houve variação entre os horários de visitação, entre os tipos de algodão e também entre a interação, desses dois fatores. Também variou entre os dias de floração, mas não entre as classes da interação dos dias e o tipo de algodão (DUTRA et al., 2012b).

Han et al. (2012) constatou que o pólen de algodão expressando as proteínas Cry1Ac+CpTI em *A. mellifera* não mostrou efeito no desenvolvimento da glândula hipofaringe e na atividade da enzima proteolítica do intestino das abelhas submetidas a uma exposição crônica do pólen de algodão transgênico.

Wang et al. (2015) em um estudo com as toxinas Cry1C e Cry2A em *A. mellifera* através de dieta artificial utilizando testes toxicológicos, bioquímicos e técnicas histopatológicas demonstrou que estas proteínas não têm toxicidade aguda para larvas. O mesmo é demonstrado no trabalho de Steijven et al. (2016) em que foi avaliada a ação do pólen de milho em larvas de abelhas mostrando que não foram detectados efeitos dose-dependentes do milho Bt em termos de sobrevivência e atraso no desenvolvimento. No entanto, para o peso da pré-pupa foi encontrada uma resposta dose-dependente, sugerindo um efeito pleiotropico. Comparando esta conclusão com a literatura conclui-se que o efeito encontrado não é provável que ocorra em situação de campo.

Niu et al. (2017) realizou testes com o pólen de algodão de duas variedades que expressavam as toxinas Cry1Ac e Cry2Ab em *A. mellifera* e não constatou efeitos. Yi et al. (2018) avaliando pólen de repolho transgênico expressando Cry1Ba3 e a toxina Bt ativa em *A. mellifera* na sobrevivência, consumo de pólen, peso, atividade da enzima de desintoxicação e enzima de intestino médio não demonstrou efeitos.

Baseados nas informações da literatura que demonstram que pode haver algum efeito das culturas transgênicas em organismos não-alvo realizou-se este estudo com três cultivares transgênicas que são as mais usadas na região de Dourados, Mato Grosso do Sul buscando trazer informações que possam auxiliar o produtor rural na tomada de decisão ao escolher um cultivar transgênica que seja mais adequada a sua necessidade.

OBJETIVO GERAL

Avaliar quatro cultivares de milho, sendo uma convencional e três transgênicas Bt, sobre a população de artrópodes alvo e não-alvo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar os efeitos de diferentes tecnologias de milho (EXP3320YG, MG600PW, AG9030VTpro3) e uma cultivar convencional SW5560 sem expressão da proteína transgênica na diversidade de artrópodes alvo e não-alvo;
- b) Avaliar os danos ocasionados por *Spodoptera frugiperda* em campos de milho Bt e convencional;
- c) Avaliar a dinâmica populacional de herbívoros pragas e predadores em campos de milho Bt e convencional.

HIPÓTESE

A utilização de diferentes tecnologias Bt afeta as pragas e os organismos não-alvo presentes na cultura do milho.

REFERÊNCIAS

AZIMI, S.; RAHMANI, S.; TOHIDFAR, M.; ASHOURI, A.; BANDANI, A.; TALAEI HASSANLOUEI, R. Interaction between Bt-transgenic cotton and the whitefly's parasitoid, *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). Journal of Plant Protection Research, 54(3): 272-278. 2014.

BARROS, E.M.; TORRES, J.B.; BUENO, A.F. Oviposition, development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. Neotropical Entomology, Londrina, v.39, n.6, p. 996-1001, 2010.

BETZ, F.S.; HAMMOND, B.G.; FUCHS, R.L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pests. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 32, p. 156-173, 2000.

BORTOLOTTO, O.C.; SILVA, G.V.; DE FREITAS BUENO, A.; POMARI, A.F.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; CARVALHO, R.A.; BARBOSA, G.C. Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701×MON 89788. Bulletin of Entomological Research, v. press, p. 1-7, 2014.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular Biology, Oxford, v. 41, p.423-431, 2011.

BUENO, A. F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ROGGIA, S.; BIANCO, R. Silenciosos e daninhos. Revista Cultivar: Grandes Culturas, v. 6, p. 25-27, 2015.

CARDOSO, W.S.; PINHEIRO, F.A.; MACHADO, F.P.; BOGES, J.T.S.; RIOS, S.A. Indústria do milho. In: BORÉM, A.; RIOS, S. de A. (Ed.). Milho biofortificado. Visconde do Rio Branco: Suprema, Capítulo 8, p.175-195, 2011.

CHEN, L.; CUI, J.; MA, W.; NIU, C.; LEI, C. Pollen from Cry1Ac/CpTI transgenic cotton does not affect the pollinating beetle *Haptoncus luteolus*. Journal of Pest Science, 84: 9–14, 2011.

CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). Grãos. In: Acompanhamento In: Acompanhamento da Safra Brasileira. <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>> Acesso em: 01 de abril de 2019.

CUNHA, F.M.; CAETANO, F.H.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TORRES, J.B.; TEIXEIRA, A.A.; ALVES, L.C. Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on bt-cotton. Micron (Oxford. 1993), v. 43, p. 245-250, 2012.

CRAIG, W.; TEPFER, M.; DEGRASSI, G.; RIPANDELLI, D. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. Euphytica, Wageningen, v. 164, p. 853-880, 2008.

DAVIS, F.M. & WILLIAMS, WP. Methods used to screen maize for and to determine mechanisms of resistance to the southwestern corn borer and fall armyworm. In: International Symposium on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insect, 1989, México. Proceedings... México: [s.n.], p. 101-108. 1989.

DE MORAES, C.M.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Examining plant-parasitoid interaction in tritrophic systems. Anais Sociedade Entomológica do Brasil, v. 29, n.2, p.189-203, 2000.

DOWD, P.F. Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations. Journal of Economic Entomology, v. 93, n. 6, p. 1669-1679, 2000.

DUTRA, C.C.; KOCH, R.L.; BURKNESS, E.; MEISSLE, M.; ROMEIS, J.; HUTCHISON, W.D.; FERNANDES, M.G. *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera:

Coccinellidae) exhibits no preference between Bt and non-Bt maize fed *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Plos One, v. 7, p. e44867, 2012a.

DUTRA, C. C.; MEOTTI, C.; FERNANDES, M. G.; RAIZER, J. Riqueza e composição de espécies de insetos visitantes florais de algodoeiro Bt e não-Bt. Arquivos do Instituto Biológico (Online), v. 79, p. 353-361, 2012b.

DUTRA, C.C.; FERNANDES, M. G.; RAIZER, J. ; MEOTTI, C. Richness and diversity of ants and beetles in genetically modified cotton field in Brazil. Journal of Agricultural Science and Technology, v. 3, p. 165-173, 2013.

FARIAS, J.R.; COSTA, E.C.; GUEDES, J.V.C.; ARBAGE, A.P.; B. NETO, A.; BIGOLIN, M.; PINTO, F.F. Managing the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, and corn earworm, *Helicoverpa zea*, using Bt corn and insecticide treatments. Journal of Insect Science, v.13, p.1-10, 2013.

GUO, Y.Y.; TIAN, J.C.; SHI, W.P.; DONG, X.H.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. The interaction of two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch, with Cry protein production and predation by *Amblyseius andersoni* (Chant) in Cry1Ac/Cry2Ab cotton and Cry1F maize. Transgenic Research, 25:33-44, 2016.

HAN, P.; NIU, C.Y.; BIONDI, A.; DESNEUX, N. Does transgenic Cry1Ac + CpTI cotton pollen affect hypopharyngeal gland development and midgut proteolytic enzyme activity in the honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae)? Ecotoxicology, Nov;21(8):2214-21, 2012.

HENDRIKSMA, H.P.; HÄRTEL, S.; STEFFAN-DEWENTER, I. Testing pollen of single and stacked insect-resistant Bt-maize on *in vitro* reared honey bee larvae. PLoS ONE 6(12): e28174. doi:10.1371/journal.pone.0028174. 2011.

ISAAA. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. *ISAAA Brief* No. 53. ISAAA: Ithaca, NY.

KUMAR, R.; TIAN, J.; NARANJO, S.E.; SHELTON, A.M. Effects of Bt cotton on *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) and its predator, *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Journal of Economic Entomology*, 107:927-932, 2014.

LI, Y.; ROMEIS J.; WANG, P.; PENG, Y.; SHELTON, A.M. A comprehensive assessment of the effects of Bt cotton on *Coleomegilla maculata* demonstrates no detrimental effects by Cry1Ac and Cry2Ab. *PLoS ONE* 6(7): e22185. doi:10.1371/journal.pone.0022185. 2011.

LIMA, JR I.S.; DEGRANDE, P.E.; MELO, E.P.; BERTONCELLO, T.F.; SUEKANE R. Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. *Revista Agrarian*, 5:14-19, 2012.

LIMA, M.A.P.; PIRES, C.S.S.; GUEDES, R.N.C.; CAMPOS, L.A.O. Lack of lethal and sublethal effects of Cry1Ac Bt-toxin on larvae of the stingless bee *Trigona spinipes*. *Apidologie*, vol. 44, no.1, p. 21-28. <http://dx.doi.org/10.1007/s13592-012-0151-z>. 2013.

LIU, X.X.; ZHANG, Q.W.; ZHAO, J.Z.; CAI, Q.N.; XU, H.L.; LI, J.C. Effects of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114 (3): 205–213, 2005a.

LIU, X.X.; ZHANG, Q.W.; ZHAO, J.Z.; LI, J.C.; XU, B.L.; MA, X.M. Effects of Bt transgenic cotton lines on the cotton bollworm parasitoid *Microplitis mediator* in the laboratory. *Biological Control*, 35 (2): 134–141, 2005b.

LIU, X.; ABRO, G.H.; HAN, F.; TIAN, J.; CHEN, M.; ONSTAD, D.; ROUSH, R.; ZHANG, Q.; SHELTON, A.M. Effect of Bt broccoli and resistant genotype of *Plutella*

xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) on life history and prey acceptance of the predator *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae), *Biological Control*, 2015.

LOVEI, G. L.; ANDOW, D.A.; ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a Detailed Review of Laboratory Studies. *Environmental Entomology*, College park, v. 38, n.2, p. 293-306, 2009.

LUMBIERRES, B.; ALBAJES, R.; PONS, X. Positive effect of Cry1Ab-expressing Bt maize on the development and reproduction of the predator *Orius majusculus* under laboratory conditions. *Biological Control*, 63: 150–156, 2012.

MONNERAT, R. & BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). *Controle biológico*. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, n. 3, cap.7, p.163-200, 2000.

MULETA, D.; ASSEFA, F.; HJORT, K.; ROOS, S.; GRANHALL, U. Characterization of Rhizobacteria isolated from Wild *Coffea arabica* L. *Engineering in Life Sciences*, v.9, n.2, p.100-108, 2009.

NARANJO, S. E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v. 11, p. 1-11, 2009.

NIU, L.; MA, W.; LEI, C.; JURAT-FUENTES, J.L.; CHEN, L. Herbicide and insect resistant Bt cotton pollen assessment finds no detrimental effects on adult honey bees. *Environmental Pollution*, p. 479-485, 2017

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C.; TAVARES, M.T.; PASTORI, P.L.; JACQUES, G.C.; VILELA, E.F. New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintina arnobia* in Brazil. *Phytoparasitica*, v. 36, n. 03, p. 304-306, 2008a.

PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, T.V.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; TAVARES, M.T. Species of Lepidoptera defoliators of eucalypt as new hosts for the polyphagous parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 51, n. 02, p. 259-262, 2008b.

POGUE, G.M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). Memoirs of the American Entomological Society, Philadelphia, v. 43, n.28, p.117-124, 2002.

POLANCZYK, R.A.; F.H. VALICENTE & M.R. BARRETO. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina, p.111-136. In Alves, S.B. & R.B. Lopes (eds.). Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba, FEALQ, 414p. 2008.

PRUTZ, G.; DETTNER, K. Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. Entomologia Experimentalis et Applicata, 111(3): 179–187, 2004.

RAMIREZ-ROMERO, R.; BERNAL, J.S.; CHAUFAX, J.; KAISER, L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. Crop Protection, Guildford, v. 26, p. 953-962, 2007.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1986.<<http://publications.iowa.gov/18027/1/How%20a%20corn%20plant%20develops01.pdf>>. Acesso em: 12 de Abril de 2019.

ROMEIS, J.; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. Nature Biotechnology, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2006.

SANDERS, C. J.; PELL, J. K.; POPPY, G.M.; RAYBOULD, A.; GARCIA-ALONSO M.; SCHULER, T.H. Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biological Control*, 40, 362–369, 2007.

SANTANA, A.G.; ÁVILA, C.J.; DE OLIVEIRA, H.N.; BELLON, P.P.; SCHLICK-SOUZA, E.C. Direct and Indirect Effect of Bt Cotton and No Bt Cotton on the Development and Reproduction of the Predator *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae). *American Journal of Plant Sciences*, v. 08, p. 1438-1448, 2017.

SILVA, G.V.; PASINI, A.; BUENO, A.F.; BORTOLOTTI, O.C.; BARBOSA, G.C.; CRUZ, Y.K.S. No impact of Bt soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygastriidae). *Revista Brasileira de Entomologia (Impresso)*, v. 58, p. 285-290, 2014.

STEIJVEN, K.; STEFFAN-DEWENTER, I.; & HÄRTEL, S. Testing dose-dependent effects of stacked Bt maize pollen on in vitro-reared honey bee larvae. *Apidologie*, 47: 216, 2016.

TIAN, J.C.; COLLINS, H.L.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Using field-evolved resistance to Cry1F maize in a lepidopteran pest to demonstrate no adverse effects of Cry1F on one of its major predators. *Transgenic Research*, 21: 1303–1310, 2012.

TIAN, J.C.; LONG, L.P.; WANG, X.P.; NARANJO, S.E.; ROMEIS, J.; HELLMICH, R.L.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Using resistant prey demonstrates that Bt plants producing Cry1Ac, Cry2Ab and Cry1F have no negative effects on *Geocoris punctipes* and *Orius insidiosus*. *Environmental Entomology*, 43: 242–251, 2014a.

TIAN, J.C.; WANG, X.P.; LONG, L.P.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; SHELTON, A.M. Eliminating host-mediated effects demonstrates Bt maize

producing Cry1F has no adverse effects on the parasitoid *Cotesia marginiventris*. *Transgenic Research*, 23(2):257–64, 2014b.

TIAN, J.C.; ROMEIS, J.; LIU, K.; ZHANG, F.C.; ZHENG, X.S.; XU, H.X.; CHEN, G.H.; HE, X.C.; LU, Z.X. Assessing the effects of Cry1C rice and Cry2A rice to *Pseudogonatopus flavifemur*, a parasitoid of rice planthoppers. *Scientific Reports*, 2017.

TIAN, J.C.; WANG, X.P.; CHEN, Y.; ROMEIS, J.; NARANJO, S.E.; HELLMICH, R.L.; WANG, P.; SHELTON, A.M. Bt cotton producing Cry1Ac and Cry2Ab does not harm two parasitoids, *Cotesia marginiventris* and *Copidosoma floridanum*. *Scientific Reports*, 2018.

USDA. United States Department Of Agriculture. Foreign Agricultural Service. (2019) World agricultural production. Circular Series, WAP 3-19 March 2019. <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>> Acesso em: 01 de abril de 2019.

VAN DEN BERG, J.; WARREN, J.F.; DU PLESSIS, H. The Potential Effect of Bt Maize on *Chrysoperla pudica* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, p.1–5, 2017.

VOJTECH, E.; MEISSLE, M.; POPPY, G.M. Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). *Transgenic Research*, 14:133–144, 2005.

WANG, Y.Y.; LI, Y.H.; HUANG, Z.; CHEN, X.P.; ROMEIS, J.; DAI, P.L.; PENG, Y.F; Toxicological, biochemical, and histopathological analyses demonstrate that Cry1C and Cry2A are not toxic to larvae of the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2015.

WU, H.; ZHANG, Y.; LIU, P.; XIE, J.; HE, Y.; DENG, C.; CLERCQ, P.; PANG, H. Effects of Transgenic Cry1Ac + CpTI Cotton on Non-Target Mealybug Pest *Ferrisia virgata* and Its Predator *Cryptolaemus montrouzieri*. PLoS ONE 9(4): e95537. 2014.

YI, D.; FANG, Z.; YANG, L. Effects of Bt cabbage pollen on the honeybee *Apis mellifera* L. Scientific Reports, 2018.

ZANUNCIO, J.C.; PEREIRA, F.F.; JACQUES, G.C.; TAVARES, M.T.; SERRÃO, J.E. *Tenebrio molitor* Delvare & LaSalle (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). The Coleopterists Bulletin, v. 62, p. 64-66, 2008.

ZHAO, Y.; MAB, Y.; NIU A, L.; MA, W.; MANNAKKARA, A.; CHEN, L.; LEI, C. Bt cotton expressing Cry1Ac/Cry2Ab or Cry1Ac/epsps does not harm the predator *Propylaea japonica* through its prey *Aphis gossypii*. Agriculture, Ecosystems & Environment, 179, 163–167, 2013.

Capítulo I

Influência do milho Bt na diversidade e composição de espécies artrópodes alvo e não-alvo

* Artigo publicado na revista *Journal of Agricultural Science* ISSN 1916-9760, Qualis B1 para Biodiversidade.

Influência do milho Bt na diversidade e composição de espécies artrópodes alvo e não-alvo

Maria Freire de Sousa¹, Marcos Gino Fernandes¹ & Anderson José da Silva Guimarães¹

¹ Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Brasil

Resumo

A área cultivada com transgênicos vem aumentando exponencialmente, todavia estas podem ocasionar efeitos diretos e indiretos sob organismos não-alvo. O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis impactos do milho Bt na diversidade e composição de artrópodes alvo e não-alvo, analisando três campos cultivados com milho transgênico (expressando diferentes proteínas Bt) e um campo cultivado com milho convencional (sem expressão da proteína Bt). A pesquisa foi realizada em área comercial no município de Dourados, MS, Brasil. Foram avaliados quatro campos diferentes com as seguintes cultivares comerciais de milho transgênico: EXP3320YG(Cry1Ab), MG600PW(Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), AG9030VTpro3(Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3B b1), e a cultivar convencional (SW5560). Em cada um dos quatro campos foram amostradas 50 plantas (unidades amostrais) para o registro visual do número de espécimes de artrópodes. As amostragens foram realizadas com periodicidade semanal, totalizando de 15 avaliações. Um total de 2.525 exemplares de artrópodes, compreendendo 29 espécies de 25 famílias, foi registrado em 3.000 plantas amostradas. A família mais diversa pertenceu à ordem Hemiptera. Com base nos índices de Shannon e Simpson, a cultivar Bt-transgênica MG600PW apresentou menor nível de diversidade de artrópodes não-alvo do que as outras cultivares. O estudo demonstra que os índices de Shannon e Simpson nas cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3 não foram afetados. A cultivar MG600PW apresentou uma grande quantidade de inimigos naturais como o predador *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae) o que é importante, pois os predadores junto com outros inimigos naturais presentes no ambiente exercem o controle natural das populações de insetos pragas.

Palavras-chave: biossegurança, biodiversidade, índice de diversidade, milho transgênico

Abstract

The area cultivated with transgenics has been increasing exponentially, but these can cause direct and indirect effects under non-target organisms. The objective of this study was to evaluate the possible impacts of Bt maize on the diversity and composition of target and non-target arthropods by analyzing three fields cultivated with transgenic maize (expressing different Bt proteins) and one field cultivated with conventional maize (without Bt protein expression). The research was carried out in a commercial area in the city of Dourados, MS, Brazil. Four different fields were evaluated with the following commercial cultivars of transgenic corn: EXP3320YG (Cry1Ab), MG600PW (Cry1A.105 / Cry2Ab2 / Cry1F), AG9030VTpro3 (Cry1A.105 / Cry2Ab2 / Cry3Bb1), and the conventional cultivar (SW5560). In each of the four fields were sampled 50 plants (sample units) for the visual record of the number of arthropod specimens. The samplings were performed weekly, totaling 15 evaluations. A total of 2,525 specimens of arthropods, comprising 29 species from 25 families, were recorded in 3,000 sampled plants. The most diverse family belonged to the Hemiptera order. Based on the Shannon and Simpson indices, the Bt-transgenic cultivar MG600PW presented a lower level of non-target arthropod diversity than the other cultivars. The study shows that the Shannon and Simpson indices in transgenic cultivars MG600PW and AG9030VTpro3 were not affected. The cultivar MG600PW presented a large number of natural enemies such as the predator *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae) which is important because predators along with other natural enemies present in the environment exert natural control of insect pests.

Key words: biosafety, biodiversity, diversity index, transgenic maize

1. Introdução

A área global com culturas transgênicas atingiu 189,8 milhões de hectares em 2017, o que a torna uma das tecnologias mais adotadas nos últimos tempos. As principais culturas transgênicas no mundo são a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (94,1 milhões de hectares), seguida do milho (*Zea mays* L.) (59,7 milhões de hectares), algodão (*Gossypium hirsutum* L.) (24,1 milhões de hectares) e canola (*Brassica napus* L.) (10,2 milhões de hectares) (Isaaa, 2017). No Brasil, 50,2 milhões de hectares são plantados com cultivares transgênicas de soja, milho e algodão (Isaaa, 2017). O cultivo de plantas transgênicas traz vantagens, dentre as quais podemos citar: aumento da produtividade agrícola, menor uso intensivo de mão-de-obra e redução de danos ecológicos (Huang et al., 2005; Naranjo, 2009; Wang et al., 2010).

O milho, com cerca de 16 milhões de hectares cultivados e uma produção de mais de 82 milhões de toneladas, é a segunda cultura mais importante da economia brasileira (Conab, 2018). A implementação em larga escala de cultivares transgênicas representa uma inovação tecnológica, sendo, portanto, essencial a avaliação contínua da sua eficiência e possíveis efeitos sobre o meio ambiente (Bauer-Panskus &Then, 2014).

Artrópodes não-alvo em ecossistemas de milho têm importantes funções ecológicas, como regulação das populações de artrópodes-pragas, decomposição e reciclagem de matéria orgânica, ou podem atuar como pragas (Comas et al., 2014).

A maioria dos cultivos de milho transgênico expressa uma ou mais proteínas *cry* derivadas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Guo et al., 2016). As proteínas Bt, no milho, são expressas ao longo do desenvolvimento da planta (Groot & Dicke, 2002); portanto, artrópodes-alvo e não-alvo são expostos diretamente a essas proteínas, alimentando-se de tecidos vegetais, por exemplo, folhas, pólen ou néctar (Lovei et al., 2009; Naranjo, 2009), ou indiretamente através do consumo de presas ou hospedeiros que consumiram tecidos vegetais (Craig et al., 2008).

Diversos estudos em todo o mundo têm sido realizados com plantas de milho, soja ou algodão expressando toxinas Bt para investigar se existem efeitos dessas culturas em espécies não-alvo, incluindo herbívoros, predadores, polinizadores e parasitoides. A maioria dos estudos não mostra efeitos de toxinas Bt em herbívoros (Habustova et al., 2014; Szenasi et al., 2014), predadores (De la Poza et al., 2005; Liu et al., 2012; Guo et al., 2016; Van den Berg et al., 2017), parasitoides (Bortolotto et al., 2014; Silva et al., 2014; De Sousa et al., 2017; Tian et al., 2018) e polinizadores (Yi et

al., 2018). No entanto, outros estudos demonstraram alguns efeitos das culturas Bt em artrópodes não- alvo como redução do sucesso de emergência do parasitoide (Prutz & Dettner, 2004), desenvolvimento do parasitoide foi afetado (Liu et al., 2005a,b), a sobrevivência, tempo de desenvolvimento e pesos dos casulos do parasitoide foram afetados (Vojtech et al., 2005), o tempo de desenvolvimento, tamanho do adulto e fecundidade do parasitoide foram afetados (Ramirez-Romero et al., 2007), o peso dos parasitoides adultos foi menor em milho Bt (Sanders et al., 2007), causou a ruptura da matriz perimicrovilar do predador (Cunha et al., 2012).

Considerando a hipótese de que as diferentes biotecnologias de milho utilizadas na região Centro- Oeste afetam a estrutura de comunidades de artrópodes este trabalho teve o objetivo de avaliar a estrutura da comunidade de herbívoros alvo e não-alvo e predadores mais abundantes nesta região, analisando um campo cultivado com milho convencional (sem expressão da proteína Bt) e três campos cultivados com milho transgênico (expressando diferentes proteínas Bt).

2. Material e Métodos

2.1 Áreas Experimentais

O experimento foi realizado em área comercial urbana na Fazenda Guerra no município de Dourados (22,1984466 °N, 51,8901629 °W), Mato Grosso do Sul, Brasil na segunda safra de 2017. A área amostral compreendeu quatro campos diferentes de milho, um campo cultivado com milho convencional e três campos cultivados com milho Bt, todos os campos foram cultivados a uma distância de 500m entre si. Foram avaliadas três cultivares comerciais de milho transgênico: EXP3320YG (Monsanto, EUA) expressando Cry1Ab, e MG600PW (Monsanto, EUA e Dow Agrosiences, EUA) expressando Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F ambas conferindo resistência a Lepidoptera *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith,1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e com ciclo precoce; e AG9030VTpro3 (Monsanto, EUA) expressando Cry1A.105+ Cry2Ab2+Cry3Bb1 que confere resistência a Lepidoptera *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Bodie) (Lepidoptera, Noctuidae) e Coleoptera *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) com ciclo super-precoce. Também foi avaliado um quarto campo com a cultivar convencional SW5560 (sem expressão da proteína transgênica), que possui ciclo precoce.

2.2 Métodos de amostragem

Em cada um dos quatro campos foram amostradas 50 plantas (unidades amostrais) selecionadas aleatoriamente em caminharmento em espiral, para a contagem visual cuidadosa dos insetos presentes, evitando assim o voo dos insetos com as amostragens sendo realizadas manualmente na planta inteira. Durante o período amostral, que compreendeu o tempo de ocorrência de todas as principais pragas da área de estudo, foram realizadas amostragens com periodicidade semanal, sendo que os campos amostrais foram avaliados no mesmo dia, sempre no período matutino, das 07h30min às 12h30min. O período de amostragem foi de 4 de abril de 2017 a 11 de julho de 2017 (compreendendo 15 avaliações). Os campos com cada uma das cultivares foram semeados em datas diferentes (EXP3320YG plantio 09/03/17, MG600PW plantio 21/02/17, AG9030VTpro3 e convencional SW5560 plantio 12/03/17).

A cultivar EXP3320YG encontrava-se em estágio V8 na 1ª e 2ª amostragens, na 3ª amostragem encontrava-se em V12, na 4ª e 5ª amostragens em Vt, e a partir da 6ª amostragem as plantas estavam no estágio reprodutivo, estando em R1 na 6ª e 7ª amostragens, em R2 na 8ª e 9ª amostragens, em R3 na 10ª amostragem, na 11ª amostragem estágio R4, na 12ª amostragem estágio R5, na 13ª amostragem estágio R6 e na 14ª amostragem estágio R6 de acordo com Richie & Hanway (1986). A cultivar MG600PW encontrava-se em estágio V12 na 1ª amostragem, na 2ª e 3ª amostragens em Vt, a partir da 4ª amostragem passou aos estádios reprodutivos, estando em R1 na 4ª e 5ª amostragens, R2 na 6ª e 7ª amostragens, na 8ª amostragem estágio R3, na 9ª e 10ª amostragens estágio R4, na 11ª amostragem estágio R5, na 12ª, 13ª e 14ª amostragens estágio R6 de acordo com Richie & Hanway (1986). A cultivar AG9030VTpro3 na 1ª amostragem encontrava-se em estágio V4, na 2ª amostragem em estágio V8, na 3ª e 4ª amostragens estágio V12, na 5ª e 6ª amostragens estágio Vt, na 7ª amostragem passou aos estádios reprodutivos estando em R1 na 7ª e 8ª amostragens, na 9ª, 10ª e 11ª amostragens estágio R2, na 12ª amostragem estágio R3, na 13ª amostragem estágio R4, na 14ª amostragem estágio R5 e na 15ª amostragem estágio R6 de acordo com Richie & Hanway (1986). A cultivar convencional SW5560 na 1ª amostragem encontrava-se em estágio V4, na 2ª amostragem em estágio V8, na 3ª e 4ª amostragens estágio V12, estágio Vt na 5ª e 6ª amostragens, na 7ª amostragem passou aos estádios reprodutivos estando em R1 na 7ª e 8ª amostragens, na 9ª, 10ª e 11ª amostragens estágio R2, na 12ª amostragem estágio R3, na 13ª amostragem estágio R4, na 14ª amostragem estágio R5 e na 15ª amostragem estágio R6 de acordo com Richie & Hanway (1986).

2.3 Análise de dados

A riqueza de espécies para cada parcela foram determinadas pelo índice de diversidade de Shannon, que foi calculado por $\sum \pi_i \ln \pi_i$, onde π_i é a probabilidade de ocorrência do indivíduo i , e \ln é logaritmo neperiano (Shannon & Weaver, 1949) e a dominância de espécies foi avaliada com o índice de Simpson (Pinto-Coelho, 2002). Também foi feita uma representação gráfica do número de indivíduos dos principais insetos-pragas e inimigos naturais presentes na cultura em cada data de amostragem.

3. Resultados

3.1 Riqueza e Abundância de Espécies

Um total de 2.525 indivíduos de artrópodes, compreendendo 29 espécies (Tabela 1), foram registrados em 3.000 plantas durante todo o período amostral. O maior número de indivíduos foi encontrado em AG9030VTpro3 (737), e o menor em MG600PW (438). Esta última cultivar também apresentou a menor diversidade de espécies (16 espécies), enquanto a maior diversidade foi observada na cultivar convencional (21 espécies) (Tabela 1).

A cultivar EXP3320YG teve um grande número de pragas-alvo como *S. frugiperda*, sendo que as demais pragas não-alvo que apresentaram número elevado foram: *D. speciosa*, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) e Acrididae sp. (Orthoptera). Na cultivar MG600PW a praga-alvo que apareceu em maior número foi *S. frugiperda*. Na cultivar AG9030VTpro3, *S. frugiperda*, *H. zea* e *D. speciosa* foram as pragas-alvo que apareceram em maior número. A cultivar convencional SW5560 apresentou números baixos de *S. frugiperda* e *D. speciosa* quando comparada com a cultivar EXP3320YG que apresentou os maiores números destes insetos pragas (Tabela 1).

Quando se compara as cultivares transgênicas em relação à presença de inimigos naturais amostrados, a cultivar MG600PW apresentou um grande número de *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae); seguida pela cultivar AG9030VTpro3, que também apresentou um grande número de *C. sanguinea* e Chrysopidae, e posteriormente a cultivar EXP3320YG, com um grande número de *C. sanguinea* e *D. luteipes*. Em relação aos insetos visitantes florais, a família Syrphidae apareceu em maior número na cultivar AG9030VTpro3, e em menor número na cultivar EXP3320YG (Tabela 1).

Em geral, o maior número de pragas foi observado na cultivar EXP3320YG, e menor número na cultivar MG600PW (Tabela 1). O número de lagartas de *S. frugiperda* foi maior na cultivar EXP3320YG durante todo o período amostral, atingindo um pico de 80 indivíduos por 50 plantas na sétima avaliação (Figura 1). O número total de adultos de *D. speciosa* foi elevado na cultivar EXP3320YG, apresentando um pico de 69 indivíduos por 50 plantas na sexta avaliação e 48 indivíduos por 50 plantas na décima avaliação. A cultivar AG9030VTpro3 também apresentou um alto número de indivíduos de *D. speciosa* com um máximo de 21 indivíduos por 50 plantas na décima avaliação. A cultivar MG600PW apresentou, durante todo o período amostral, números baixos de *D. speciosa* com o maior índice na décima primeira avaliação com 7 indivíduos por 50 plantas (Figura 1). Os números de *C. sanguinea* e *D. luteipes* foram altos na cultivar MG600PW, com elevado número de indivíduos. Na cultivar AG9030VTpro3 somente *C. sanguinea* atingiu alta população no período final de amostragens com o maior número de indivíduos na décima segunda avaliação 22 indivíduos por 50 plantas (Figura 1).

Tabela 1: Espécies de insetos nas cultivares de milho (*Zea mays* L.) EXP3320YG, MG600PW, AG9030VTpro3, e a convencional SW5560 em 50 plantas avaliadas por amostragem. Índice de diversidade Shannon-Wiener (H), Simpson (D) e número de indivíduos. Dourados, MS, 2017.

Grupo Taxonômico	EXP3320YG			MG600PW			AG9030 VTpro3			Convencional SW5560		
	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²									
Lepidoptera												
<i>Spodoptera frugiperda</i>	321	0,190219	-0,36191	68	0,024103	-0,28919	133	0,032566	-0,30899	170	0,076659	-0,35556
<i>Helicoverpa zea</i>	4	2,95E-05	-0,02834	0	0	0	78	0,011201	-0,23769	4	4,24E-05	-0,03279
Sphingidae	0	0	0	0	0	0	1	1,84E-06	-0,00896	0	0	0
Coleoptera												
<i>Diabrotica speciosa</i>	197	0,071644	-0,35279	17	0,001506	-0,1261	68	0,008513	-0,21988	126	0,042112	-0,325
<i>Cycloneda sanguinea</i>	29	0,001553	-0,12742	67	0,023399	-0,2872	65	0,007778	-0,21416	41	0,004459	-0,18072
<i>Lagria villosa</i>	6	6,65E-05	-0,03921	0	0	0	2	7,36E-06	-0,01604	6	9,55E-05	-0,04523
Hemiptera												
<i>Euschistus heros</i>	0	0	0	0	0	0	4	2,95E-05	-0,02831	7	0,00013	-0,05101
<i>Dichelops</i> sp.	1	1,85E-06	-0,00897	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Leptoglossus zonatus</i>	4	2,95E-05	-0,02834	2	2,09E-05	-0,02461	5	4,6E-05	-0,03387	3	2,39E-05	-0,026
Reduviidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,65E-06	-0,01046
Ninfas Pentatomidae	10	0,000185	-0,05841	16	0,001334	-0,1209	11	0,000223	-0,06276	10	0,000265	-0,06706

Grupo Taxonômico	EXP3320YG			MG600PW			AG9030 VTpro3			Convencional SW5560		
	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²									
Aphididae	84	0,013026	-0,24771	95	0,047043	-0,33149	144	0,038176	-0,31902	73	0,014135	-0,25319
<i>Bemisia tabaci</i>	10	0,000185	-0,05841	0	0	0	2	7,36E-06	-0,01604	3	2,39E-05	-0,026
<i>Dalbulus maidis</i>	7	9,05E-05	-0,04428	4	8,34E-05	-0,04289	2	7,36E-06	-0,01604	3	2,39E-05	-0,026
<i>Notozulia entreriana</i>	1	1,85E-06	-0,00897	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hymenoptera												
<i>Solenopsis</i> sp.	1	1,85E-06	-0,00897	7	0,000255	-0,06611	9	0,000149	-0,0538	0	0	0
<i>Atta</i> sp.	0	0	0	0	0	0	1	1,84E-06	-0,00896	0	0	0
<i>Apis mellífera</i>	0	0	0	1	5,21E-06	-0,01389	0	0	0	0	0	0
Vespidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,65E-06	-0,01046
Neuroptera												
Chrysopidae	2	7,38E-06	-0,01605	13	0,000881	-0,10439	16	0,000471	-0,08315	17	0,000767	-0,09931
Dermaptera												
<i>Doru luteipes</i>	20	0,000738	-0,09798	80	0,03336	-0,31054	15	0,000414	-0,07926	19	0,000958	-0,10755
Forficulidae	0	0	0	1	5,21E-06	-0,01389	0	0	0	0	0	0
Araneae												
Araneae	0	0	0	3	4,69E-05	-0,03413	1	1,84E-06	-0,00896	2	1,06E-05	-0,01865

Grupo Taxonômico	EXP3320YG			MG600PW			AG9030 VTpro3			Convencional SW5560		
	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²	Número de Indivíduos	Pi.lnpi	Pi ²
Orthoptera												
Acrididae	4	2,95E-05	-0,02834	2	2,09E-05	-0,02461	0	0	0	1	2,65E-06	-0,01046
Gryllidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,65E-06	-0,01046
Diptera												
<i>Musca domestica</i>	4	2,95E-05	-0,02834	2	2,09E-05	-0,02461	0	0	0	5	6,63E-05	-0,03917
Syrphidae	30	0,001661	-0,13044	60	0,018765	-0,27231	180	0,05965	-0,34428	120	0,038197	-0,31906
Tachinidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,65E-06	-0,01046
Odonata												
Libellulidae	1	1,85E-06	-0,00897	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total de indivíduos	736			438			737			614		
Total de espécies	19			16			18			21		
Shannon-Wiener	1,692801			2,086845			2,060156			2,024573		
Simpson	0,721			0,849148			0,840755			0,822019		

* pi.lnpi = pi é a probabilidade de ocorrência do indivíduo i, e ln é logaritmo neperiano.

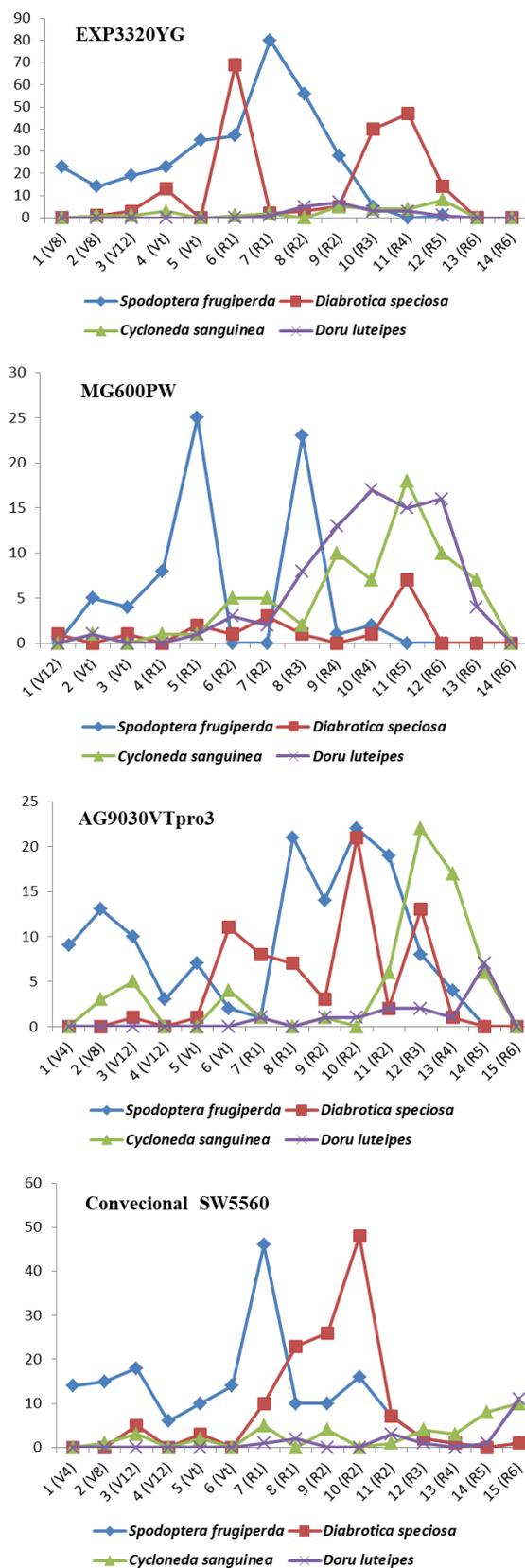


Figura 1. Dinâmica populacional de pragas e inimigos naturais em quatro cultivares de milho (*Zea mays* L.). Dourados, MS, 2017.

3.2 Diversidade de Espécies

Dez ordens foram amostradas nas quatro cultivares estudadas, sendo Hemiptera e Hymenoptera as ordens que se destacaram com relação ao número de famílias amostradas. Foram amostradas 19 famílias de insetos herbívoros (Noctuidae, Sphingidae, Crysomelidae, Lagriidae, Pentatomidae, Coreidae, Reduviidae, Aphididae, Aleyrodidae, Cicadellidae, Cercopidae, Formicidae, Apidae, Vespidae, Acrididae, Gryllidae, Muscidae, Syrphidae, Libellulidae) e cinco famílias de inimigos naturais (Coccinellidae, Ichneumonidae, Crysopidae, Forficulidae, Tachinidae).

Os menores valores dos índices de Shannon e Simpson foram obtidos para a cultivar EXP3320YG, embora ambos os índices tenham apresentado pequena diferença em relação às demais cultivares.

4. Discussão

Na cultivar EXP3320YG ocorreram os menores valores para os índices de Shannon e Simpson, já nas demais cultivares estes apresentam uma pequena diferença entre si. Os índices de diversidade de Shannon e Simpson são úteis como indicadores da distribuição de comunidades de inimigos naturais (Guo et al., 2014) e de herbívoros não visados pelas tecnologias Bt. Os valores de ambos os índices de diversidade foram semelhantes entre as cultivares Bt (MG600PW, AG9030VTpro3) e não Bt (convencional SW5560), mas foram os menores em EXP3320YG (cultivar Bt). Esses índices similares (MG600PW, AG9030VTpro3 e SW5560) indicam que os dois grupos (Bt e não-Bt) das cultivares compartilham padrões semelhantes de riqueza e abundância de espécies. Por outro lado, hipotetizamos que a menor riqueza de espécies encontradas na cultivar transgênica EXP3320YG foi causada pela evolução da resistência das pragas-alvo a essa tecnologia (Omoto et al., 2016).

A alta densidade de *S. frugiperda* durante todo o período amostral na cultivar EXP3320YG demonstra que a tecnologia Cry1Ab não é mais eficiente contra esta praga. De acordo com McGaughey & Whalon (1992), a expressão contínua de genes *cry* em plantas transgênicas exerce uma forte pressão seletiva sobre as pragas-alvo, levando à evolução de sua resistência. De fato, vários estudos comprovam que a resistência de *S. frugiperda* à proteína Cry1Ab expressa na cultura do milho foi

quebrada (Horikoshi et al., 2016; Omoto et al., 2016; Sousa et al., 2016). A evolução da resistência em populações de insetos-alvo pode reduzir os benefícios econômicos e ambientais de cultivos transgênicos (Farias et al., 2014).

Outros estudos também relataram o não efeito de toxinas Bt em um grande número de insetos não-alvo. Por exemplo, Guo et al. (2014) avaliaram os efeitos do milho expressando a toxina Cry1Ac (não presente em cultivares brasileiras) na comunidade de artrópodes não-alvo, e não encontraram evidências de que o milho Bt tenha afetado negativamente as comunidades de herbívoros, predadores e parasitoides não-alvo. Da mesma forma, Truter et al. (2014), Svobodová et al. (2015) e Resende et al. (2016) não encontraram diferenças significativas entre os campos de milho Bt e não-Bt expressando diferentes proteínas Bt sobre a diversidade e abundância de artrópodes não-alvo.

Os resultados do presente estudo são semelhantes aos encontrados em outros estudos de campo que avaliaram a abundância e diversidade de artrópodes em campos de milho Bt e não-Bt, não demonstrando efeitos significativos do Bt na população de artrópodes amostrados. No entanto, existem vários outros estudos que mostraram alguns efeitos das toxinas Bt nas comunidades de artrópodes (Prutz & Dettner, 2004; Liu et al., 2005a,b, Vojtech et al., 2005; Ramirez-Romero et al., 2007; Sanders et al., 2007; Cunha et al., 2012), provavelmente porque as condições de campo são complexas e vários fatores (clima, temperatura, diferentes tipos de presas e hospedeiros) não podem ser controlados. Além disso, a preferência por uma presa ou hospedeiro em particular e a competição entre inimigos são fatores que podem influenciar os resultados finais (Guo et al., 2016).

A menor riqueza e dominância de espécies foram obtidas na cultivar EXP3320YG, enquanto nas demais cultivares estes índices não diferiram. A cultivar MG600PW apresentou a menor diversidade de espécies, enquanto que na cultivar convencional SW5560 se encontrou a maior diversidade de espécies. Portanto, o estudo demonstra que, conforme os índices de Shannon e Simpson, as espécies de herbívoros e predadores ocorrentes nas cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3 não foram afetadas comparativamente à cultivar convencional.

Apesar de o trabalho ter sido feito em apenas uma safra o mesmo demonstra resultados semelhantes a outras pesquisas realizadas em um período maior. Os dados meteorológicos da região no ano do estudo representaram fielmente as características

climáticas da região. Há uma grande preocupação dos efeitos adversos das plantas transgênicas na biodiversidade, e este estudo demonstrou que a biodiversidade é muito pouco afetada pela ação das plantas transgênicas.

Podemos concluir a partir deste estudo de curto prazo que os índices de Shannon e Simpson nas cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3 não foram afetadas comparativamente á cultivar convencional. Este estudou proporcionou uma avaliação da comunidade de artrópodes da região. O estudo foi limitado em sua extensão, tendo em vista que a comunidade de artrópodes do solo não foi avaliada. Estudos de longo prazo e outras técnicas de avaliação da comunidade de artrópodes devem ser incluídos para melhorar a avaliação da biodiversidade da região.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Bauer-Panskus, A., & Then, C. (2014). Case study: Industry influence in the risk assessment of genetically engineered maize 1507. *Testbiotech Background*, 10, 1–32.
- Bortolotto, O.C., Silva, G.V., De Freitas Bueno, A., Pomari, A.F., Martinelli, S., Head, G.P., Carvalho, R.A., Barbosa, G.C. (2014). Development and reproduction of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) and its egg parasitoid *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) on the genetically modified soybean (Bt) MON 87701×MON 89788. *Bulletin of Entomological Research*, 1-7. doi:10.1017/S0007485314000546.
- Comas, C., Lumbierres, B., Pons, X., Albajes, R. (2014). No effects of *Bacillus thuringiensis* maize on nontarget organisms in the field in southern Europe: a meta-analysis of 26 arthropod taxa. *Transgenic Research*, 23: 135–143. doi: 10.1007/s11248-013-9737-0.
- Conab-Companhia Nacional de Abastecimento. (2018). Grãos. In: Acompanhamento da Safra Brasileira.< <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>> Acesso em: 20 de agosto de 2018.

- Cunha, F.M., Caetano, F.H., Wanderley-Teixeira, V., Torres, J.B., Teixeira, A.A., Alves, L.C. (2012). Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on bt-cotton. *Micron*, (Oxford.1993) 43: 245-250. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.08.006>
- Craig, W., Tepfer, M., Degrassi, G., Ripandelli, D. (2008). An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. *Euphytica Wageningen*, 164: 853-880. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9643-8>.
- De la Poza, M., Pons, X., Farinós, G.P., López, C., Ortego, F., Eizaguirre, M., Castañera, P., Albajes, R. (2005). Impact of farm-scale Bt maize on abundance of predatory arthropods in Spain. *Crop Protection*, 24: 677–684. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.12.003>.
- De Sousa, M.F., Fernandes, M.G., Mota, T.A. (2017). Biology of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) fed transgenic maize pollen. *Florida Entomologist*, 100: 653-656. <https://doi.org/10.1653/024.100.0324>.
- Farias, J.R., Andow, D.A., Horikoshi, R.J., Sorgatto, R.J., Fresia, P., Santos, A.C., Omoto, C. (2014). Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Protection*, Guildford, 64:150-158. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.019>.
- Guo, Y., Feng, Y., Ge, Y., Tetreau, G., Chen, X., Dong, X., Shi, W. (2014). The cultivation of Bt corn producing cry1Ac toxins does not adversely affect non-target arthropods. *PLoS ONE* 9, e114228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114228>.
- Guo, Y.Y., Tian, J.C., Shi, W.P., Dong, X.H., Romeis, J., Naranjo, S.E., Hellmich, R.L., Shelton, A.M. (2016). The interaction of two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch, with Cry protein production and predation by *Amblyseius andersoni* (Chant) in Cry1Ac/Cry2Ab cotton and Cry1F maize. *Transgenic Research*, 25:33-44. <https://doi.org/10.1007/s11248-015-9917-1>.
- Guo, J., He, K., Hellmich, R.L., Bai, S., Zhang, T., Liu, Y., Ahmed, T., Wang, Z. (2016). Field trials to evaluate the effects of transgenic cry1Ie maize on the community characteristics of arthropod natural enemies. *Scientific Reports* doi: 10.1038/srep22102.

- Groot, A.T., & Dicke, M. (2002). Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *The Plant Journal*, 31: 387–406. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01366.x.
- Habuřtová, O., Doleřal, P., Spitzer, L., Svobodová, Z., Hussein, H., Sehnal, F. (2014). Impact of Cry1Ab toxin expression on the non-target insects dwelling on maize plants. *Journal of Applied Entomology*, 138:164–172. <https://doi.org/10.1111/jen.12004>.
- Horikoshi, R.J., Bernardi, O., Bernardi, D., Malaquias, J.B., Okuma, D.M., Miraldo, L.L., Amaral, F.S.A., Omoto, C. (2016). Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. *Scientific Reports*, 6:34864. doi: 10.1038/srep34864.
- Huang, J., Hu, R., Rozelle, S., Pray, C. (2005). Insect-resistant GM rice in farmers' fields: assessing productivity and health effects in China. *Science*, 308:688–690. doi: 10.1126/science.1108972.
- Isaaa. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops (2017): Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. *ISAAA Brief No. 53*. ISAAA: Ithaca, NY.
- Liu, X.X., Zhang, Q.W., Zhao, J.Z., Cai, Q.N., Xu, H.L., Li, J.C. (2005a). Effects of the Cry1Ac toxin of *Bacillus thuringiensis* on *Microplitis mediator* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114 (3): 205–213. doi: 10.1111/j.1570-7458.2005.00248.x.
- Liu, X.X., Zhang, Q.W., Zhao, J.Z., Li, J.C., Xu, B.L., Ma, X.M. (2005b). Effects of Bt transgenic cotton lines on the cotton bollworm parasitoid *Microplitis mediator* in the laboratory. *Biological Control*, 35 (2): 134–141. doi: 10.1016/j.biocontrol.2005.08.006.
- Liu, H., He, K.L., Bai, S.X., Wang, Z.Y. (2012). Population dynamics of ladybird beetles (Coleoptera: Coccinellidae) in transgenic Cry1Ab and non-transgenic maize fields. *Journal of Biosafety*, 21:130–134.
- Lovei, G.L., Andow, D.A., Arpaia, S. (2009). Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a Detailed Review of Laboratory Studies. *Environmental Entomology*, 38: 293-306. doi: 10.1603/022.038.0201.

- McGaughey, W.H. & Whalon, M.E. (1992). Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Science*, 258:1451-1555. doi:10.1126/science.258.5087.1451.
- Naranjo, S.E. (2009). Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 11:1-11. doi: 10.1079/PAVSNNR20094011.
- Omoto, C., Bernardi, O., Salmeron, E., Sorgatto, R.J., Dourado, P.M., Crivellari, A., Carvalho, R.A., Willse, A., Martinelli, S., Head, G.P. (2016). Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. *Pest Management Science*, 72(9):1727-36. doi: 10.1002/ps.4201.
- Pinto-Coelho, R. M. (2002). Fundamentos em Ecologia. Porto Alegre, Ed:Artmed.
- Prutz, G. & Dettner, K. (2004). Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111(3): 179–187. <https://doi.org/10.1111/j.0013-8703.2004.00166.x>.
- Ramirez-Romero, R., Bernal, J.S., Chaufaux, J., Kaiser, L. (2007). Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. *Crop Protection*, 26: 953-962. doi: 10.1016/j.cropro.2006.09.001.
- Resende, D.C., Mendes, S.M., Marucci, R.C., Silva, A.C., Campanha, M.M., Waquil, J.M. (2016). Does Bt maize cultivation affect the non-target insect community in the agro ecosystem? *Revista Brasileira de Entomologia*, (Impresso). 60:82-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2015.12.001>.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1986.<<http://publications.iowa.gov/18027/1/How%20a%20corn%20plant%20develops001.pdf>>. Acesso em: 12 de Abril de 2019.
- Sanders, C. J., Pell, J.K., Poppy, G.M., Raybould, A., Garcia-Alonso M., Schuler, T.H. (2007). Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biological Control*, 40: 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.12.010>.

- Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949). The mathematical theory of communication. Urbana: University of Illinois Press.
- Silva, G.V., Pasini, A., Bueno, A.F., Bortolotto, O.C., Barbosa, G.C., Cruz, Y.K.S. (2014). No impact of Bt soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygasteridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 58: 285-290. <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262014000300010>.
- Sousa, F. F., Mendes, S.M., Santos-Amaya, O.F., Araújo, O. G., Oliveira, E.E., Pereira, E.J.G. (2016). Life-history traits of *Spodoptera frugiperda* populations exposed to low-dose Bt maize. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156608>.
- Svobodová, Z., Skoková, H.O., Hutchison, W.D., Hussein, H.M., Sehnal, F. (2015). Risk assessment of genetically engineered maize resistant to *Diabrotica* spp.: Influence on Above-Ground Arthropods in the Czech Republic. *PLoS ONE* 10(6): e0130656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130656>.
- Szenasi, A., Palinkas, Z., Zalai, M., Schmitz, O.J., Balog, A. (2014). Short-term effects of different genetically modified maize varieties on arthropod food web properties: an experimental field assessment. *Scientific Reports*, 4: 1–7. doi:10.1038/srep05315.
- Tian, J.C., Wang, X.P., Chen, Y., Romeis, J., Naranjo, S.E., Hellmich, R.L., Wang, P., Shelton, A.M. (2018). Bt cotton producing Cry1Ac and Cry2Ab does not harm two parasitoids, *Cotesia marginiventris* and *Copidosoma floridanum*. *Scientific Reports*. doi: 10.1038/s41598-017-18620-3.
- Truter, J., Van Hamburg, H., Van Den Berg, J. (2014). Comparative diversity of arthropods on Bt maize and non-Bt maize in two different cropping systems in South Africa. *Environmental Entomology*, 43:197-208. <https://doi.org/10.1603/EN12177>.
- Van den Berg, J., Warren, J.F., Du Plessis, H. (2017). The potential effect of Bt maize on *Chrysoperla pudica* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 1–5. doi:10.1093/ee/nvx045.
- Vojtech, E., Meissle, M., Poppy, G.M. (2005). Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia*

marginiventris (Hymenoptera: Braconidae). *Transgenic Research*, 4:133–144.
doi: 10.1007/s11248-005-2736-z.

Wang, Y.M., Zhang, G.A., Du, J.P., Liu, B., Wang, M.C. (2010). Influence of transgenic hybrid rice expressing a fused gene derived from Cry1Ab and Cry1Ac on primary insect pests and rice yield. *Crop Protection*, 29:128–133.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.10.004>.

Yi, D., Fang, Z., Yang, L. (2018). Effects of Bt cabbage pollen on the honeybee *Apis mellifera* L. *Scientific Reports*. doi: 10.1038/s41598-017-18883-w.

Capítulo II

Dinâmica populacional de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), demais herbívoros e predadores em cultivares de milho Bt e convencional

* Formatado nas normas da revista Anais da Academia Brasileira de Ciências ISSN 0001-3765 versão impressa ISSN 1678-2690 versão online, Qualis para biodiversidade: B2.

Resumo

Um dos principais fatores que comprometem a produtividade do milho é a incidência de pragas. Dentre estas, destaca-se a lagarta-do-cartucho considerada a principal praga da cultura. O objetivo deste estudo foi avaliar a dinâmica populacional de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), outros herbívoros pragas e predadores comparando um campo de milho convencional e três campos cultivados com milho transgênico expressando diferentes proteínas Bt. A pesquisa foi realizada em área comercial no município de Dourados, MS, Brasil. Foram avaliados quatro campos diferentes com as seguintes cultivares comerciais de milho transgênico: EXP3320YG (Cry1Ab), MG600PW (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), AG9030VTpro3 (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1) e a cultivar convencional (SW5560). Em cada um dos quatro campos foram amostradas 50 plantas (unidades amostrais) com periodicidade semanal, totalizando de 15 avaliações. Atribui-se notas visuais para a intensidade dos danos foliares provocados por *S. frugiperda* e também contabilizou-se o total de lagartas e posturas de *S. frugiperda*, e o total de artrópodes presentes em cada uma das áreas. A cultivar EXP3320YG apresentou as notas de dano mais altas, enquanto as cultivares MG600PW e AG9030VTpro3 apresentaram as menores notas. A cultivar EXP3320YG apresentou o maior número de herbívoros (651) e o menor número de predadores (51), e a cultivar MG600PW apresentou o menor número de herbívoros (211) e o maior número de predadores (161). Os resultados demonstram que as cultivares avaliadas apresentaram diferenças em relação ao ataque de *S. frugiperda*, sendo que a cultivar EXP3320YG apresentou as maiores notas de danos, demonstrando que esta praga adquiriu resistência a toxina Cry1Ab.

Palavras-chave: *Zea mays*, lagarta-do-cartucho, *Bacillus thuringiensis*, transgênicos, Manejo Integrado de Pragas, controle biológico

Abstract

One of the main factors that compromise maize productivity is the incidence of pests. Among these, the fall armyworm is considered the main pest of the crop. The objective of this study was to evaluate the population dynamics of *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), other herbivorous pests and predators comparing a conventional corn field and three fields cultivated with transgenic maize expressing different Bt proteins. The research was carried out in a commercial area in the city of Dourados, MS, Brazil. Four different fields were evaluated with the following commercial cultivars of transgenic maize: EXP3320YG (Cry1Ab), MG600PW (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry1F), AG9030VTpro3 (Cry1A.105/Cry2Ab2/Cry3Bb1) and the conventional cultivar (SW5560). In each of the four fields were sampled 50 plants (sample units) with weekly frequency, totaling 15 evaluations. Visual notes are given for the intensity of foliar damage caused by *S. frugiperda* and the total number of *S. frugiperda* caterpillars and stumps and the total number of arthropods present in each area were also recorded. The cultivar EXP3320YG presented the highest damage scores, while the cultivars MG600PW and AG9030VTpro3 presented the lowest grades. The cultivar EXP3320YG showed the highest number of herbivores (651) and the lowest number of predators (51), and the cultivar MG600PW presented the lowest number of herbivores (211) and the highest number of predators (161). The results showed that the evaluated cultivars presented differences in relation to the attack of *S. frugiperda*, and the cultivar EXP3320YG presented the highest damages, demonstrating that this pest acquired resistance to Cry1Ab toxin.

Keywords: *Zea mays*, fall armyworm, *Bacillus thuringiensis*, transgenic, Integrated Pest Management, biological control

Introdução

Um dos fatores que comprometem a produção e a qualidade do milho é a incidência de pragas. A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é a principal praga de ocorrência no milho (Blanco et al. 2016). Os prejuízos anuais causados no Brasil são estimados em mais de US\$ 400 milhões. A produtividade pode atingir uma redução de 60%, dependendo da cultivar e da época de ataque (Rosa 2011).

As espécies pertencentes ao gênero *Spodoptera* são amplamente distribuídas no mundo e das 30 espécies descritas, metade tem importância econômica (Pogue 2002), devido à elevada fertilidade e alto grau de polifagia das larvas, que podem se alimentar de centenas de espécies de plantas hospedeiras, apresentando excelente capacidade de dispersão (Nagoshi et al. 2012, Westbrook et al. 2015).

Plantas transgênicas que expressam proteínas derivadas da bactéria, *Bacillus thuringiensis* (Bt) são cultivadas em larga escala ao redor do mundo (Isaac 2017). O cultivo destas plantas traz algumas vantagens, como redução nas aplicações de inseticidas, aumento do rendimento das culturas, menos uso intensivo de mão de obra e redução de danos ecológicos (Huang et al. 2005; Naranjo 2009; Wang et al. 2010). De acordo com Brookes and Barfoot (2013), de 1996 a 2011 as culturas transgênicas proporcionaram um benefício econômico de US\$ 98,2 bilhões; em 2011 o valor foi estimado em US\$ 19,8 bilhões. Um benefício adicional foi o aumento significativo na produtividade do milho, que aumentou 195 milhões de toneladas globalmente.

A utilização em larga escala de cultivares transgênicas levantou a preocupação sobre quais impactos ambientais estes cultivos podem trazer para artrópodes não-alvos e para tanto são realizadas diversas pesquisas que visam confirmar este fato. Estudos de laboratório não relataram efeitos em inimigos naturais (Dutton et al. 2002, Li and

Romeis 2010, Meissle and Romeis, 2009). Outras pesquisas demonstram que não houve efeito negativo como Garcia et al. (2012). Avaliações em campo apresentam resultados diversos, pois alguns trabalhos apresentam efeitos negativos (Meissle et al. 2005, Obrist et al. 2006, Stephens et al. 2012), e outros porém não relatam efeitos (Chen et al. 2006, Eckert et al. 2006, Pons et al. 2005).

O desempenho de plantas Bt no controle de pragas-alvo pode ser afetado devido á variação na expressão da proteína Bt ao longo do desenvolvimento da planta e nas suas diferentes estruturas (Huang et al. 2011). A utilização de plantas Bt é considerada uma tática adicional no controle de pragas sendo incorporada aos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP). A expressão contínua de genes *cry* em plantas transgênicas exercem uma elevada pressão de seleção sobre as pragas-alvo, levando á evolução de sua resistência (McGaughey and Whalon 1992). O manejo da resistência é um conjunto de medidas aplicadas com a finalidade de evitar ou retardar a evolução da resistência das pragas aos agentes empregados no seu controle (Machado and Fiuza 2011). As estratégias do manejo de resistência incluem o uso de alta expressão dos genes *cry*, áreas de refúgio e piramidação de genes Bt (Bernardi et al.2011a, 2016b; Faretto et al.2017).

Trabalho atual, feito em País tropical, onde há cultivo contínuo de plantas Bt, diferente da maioria dos trabalhos que são feitos em países de clima temperado, onde não é possível o cultivo o ano todo.

Considerando a hipótese de que as diferentes biotecnologias de milho utilizadas na região Centro- Oeste afetam a estrutura de comunidades de artrópodes este trabalho teve o objetivo de avaliar a dinâmica populacional de *S.frugiperda*, demais herbívoros pragas e predadores comparando um campo de milho convencional e três campos

cultivados com milho transgênico expressando diferentes proteínas Bt (Cry1Ab,Cry1A.105,Cry2Ab2,Cry1F,Cry3Bb1).

Material e Métodos

Áreas Experimentais

O experimento foi realizado em área comercial urbana na Fazenda Guerra no município de Dourados (22,1984466 °N, 51,8901629 °W), Mato Grosso do Sul, Brasil na segunda safra de 2017. A área amostral compreendeu quatro campos diferentes de milho, um campo cultivado com milho convencional e três campos cultivados com milho Bt, todos os campos foram cultivados a uma distância de 500m entre si. Foram avaliadas três cultivares comerciais de milho transgênico: EXP3320YG (Monsanto, EUA) expressando Cry1Ab, e MG600PW (Monsanto, EUA e Dow Agrosiences, EUA) expressando Cry1A.105+Cry2Ab2+Cry1F ambas conferindo resistência a Lepidoptera *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith,1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e com ciclo precoce; e AG9030VTpro3 (Monsanto, EUA) expressando Cry1A.105+ Cry2Ab2+Cry3Bb1 que confere resistência a Lepidoptera *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* (Bodie) (Lepidoptera, Noctuidae) e Coleoptera *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) com ciclo super-precoce. Também foi avaliado um quarto campo com a cultivar convencional SW5560 (sem expressão da proteína transgênica), que possui ciclo precoce.

Métodos de amostragem

Em cada um dos quatro campos foram amostradas 50 plantas (unidades amostrais) selecionadas aleatoriamente em caminhamento em espiral, para a contagem visual cuidadosa dos insetos presentes, evitando assim o voo dos insetos com as

amostragens sendo realizadas manualmente na planta inteira. Durante o período amostral, que compreendeu o tempo de ocorrência de todas as principais pragas da área de estudo, foram realizadas amostragens com periodicidade semanal, sendo que os campos amostrais foram avaliados no mesmo dia, sempre no período matutino, das 07h30min às 12h30min. O período de amostragem foi de 4 de abril de 2017 a 11 de julho de 2017 (compreendendo 15 avaliações). Os campos com cada uma das cultivares foram semeados em datas diferentes (EXP3320YG plantio 09/03/17, MG600PW plantio 21/02/17, AG9030VTpro3 e convencional SW5560 plantio 12/03/17).

A cultivar EXP3320YG encontrava-se em estágio V8 na 1ª e 2ª amostragens, na 3ª amostragem encontrava-se em V12, na 4ª e 5ª amostragens em Vt, e a partir da 6ª amostragem as plantas estavam no estágio reprodutivo, estando em R1 na 6ª e 7ª amostragens, em R2 na 8ª e 9ª amostragens, em R3 na 10ª amostragem, na 11ª amostragem estágio R4, na 12ª amostragem estágio R5, na 13ª amostragem estágio R6 e na 14ª amostragem estágio R6 de acordo com Richie and Hanway (1986). A cultivar MG600PW encontrava-se em estágio V12 na 1ª amostragem, na 2ª e 3ª amostragens em Vt, a partir da 4ª amostragem passou aos estádios reprodutivos, estando em R1 na 4ª e 5ª amostragens, R2 na 6ª e 7ª amostragens, na 8ª amostragem estágio R3, na 9ª e 10ª amostragens estágio R4, na 11ª amostragem estágio R5, na 12ª, 13ª e 14ª amostragens estágio R6 de acordo com Richie and Hanway (1986). A cultivar AG9030VTpro3 na 1ª amostragem encontrava-se em estágio V4, na 2ª amostragem em estágio V8, na 3ª e 4ª amostragens estágio V12, na 5ª e 6ª amostragens estágio Vt, na 7ª amostragem passou aos estádios reprodutivos estando em R1 na 7ª e 8ª amostragens, na 9ª, 10ª e 11ª amostragens estágio R2, na 12ª amostragem estágio R3, na 13ª amostragem estágio R4, na 14ª amostragem estágio R5 e na 15ª amostragem estágio R6 de acordo com Richie and Hanway (1986). A cultivar convencional SW5560 na 1ª amostragem encontrava-se

em estádio V4, na 2ª amostragem em estádio V8, na 3ª e 4ª amostragens em estádio V12, estádio Vt na 5ª e 6ª amostragens, na 7ª amostragem passou aos estádios reprodutivos estando em R1 na 7ª e 8ª amostragens, na 9ª, 10ª e 11ª amostragens em estádio R2, na 12ª amostragem em estádio R3, na 13ª amostragem em estádio R4, na 14ª amostragem em estádio R5 e na 15ª amostragem em estádio R6 de acordo com Richie and Hanway (1986).

Atribuí-se notas visuais seguindo uma escala com variação entre 0 e 9 de Davis and Williams (1989) para verificar a intensidade dos danos foliares provocados por *S. frugiperda*.

Avaliou-se visualmente a olho nu, o tamanho das lagartas de *S. frugiperda*, considerando lagarta pequena aquelas que tinham até 1cm de comprimento, lagarta média entre 1cm e 3cm de comprimento e lagarta grande acima de 3cm de acordo com Fernandes et al. (2003) e também foram verificadas visualmente a olho nu as posturas de *S. frugiperda* presentes em cada uma das áreas avaliadas.

Análise dos Dados

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro tratamentos (cultivares) e 50 repetições totalizando 200 unidades amostrais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) com o auxílio do software estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira 2011).

Foi feita ainda a correlação de Pearson para cada área avaliada e para o total de herbívoros e predadores das quatro áreas. A correlação foi feita entre herbívoros com as seguintes variáveis: temperatura média, umidade relativa, precipitação e predadores; já em relação aos predadores foi feita a correlação com as seguintes variáveis: temperatura média, umidade relativa e precipitação. A interpretação dos coeficientes de correlação de Pearson (r) foi feita utilizando-se faixas de valores que estabelece de 0 a 0,19 como

"muito fraca - mf"; 0,20 a 0,39 como "fraca - fr"; 0,40 a 0,69 como "moderada - m"; 0,70 a 0,89 como "forte - fo" e 0,90 a 1,00 como "muito forte - mfo" (Shikamura 2008).

Os dados meteorológicos foram obtidos através do site:

<https://clima.cpao.embrapa.br/?lc=site/banco-dados/construtor-basico>.

Resultados

Danos causados por *S. frugiperda*

A cultivar EXP3320YG, apresentou as maiores notas de dano e o maior número de lagartas durante todo o período amostral, bem como as maiores médias de posturas de *S. frugiperda*. A cultivar MG600PW comparada com EXP3320YG apresentou plantas com poucas lesões, baixa quantidade de lagartas durante o período amostral e poucas posturas de *S. frugiperda*. A cultivar AG9030VTpro3 comparada com EXP3320YG apresentou plantas com poucas lesões; a média total de lagartas foi baixa e teve poucas posturas de *S. frugiperda*. A cultivar convencional SW5560 apresentou plantas com poucas lesões quando comparada com EXP3320YG tendo em vista que esta cultivar não expressa proteínas com efeito inseticidas para lepidópteros, isso ocorre devido a competição de *S. frugiperda* com outras pragas presentes na área cultivada com milho o que fez com que os danos ocasionados pela lagarta não fossem tão severos, ou seja, a população de *S. frugiperda* foi mantida em equilíbrio. Quanto ao total de lagartas, apresentou média baixa o que acontece também em relação ao número de posturas de *S. frugiperda* (Figura 1).

A cultivar EXP3320YG apresentou o maior índice de lagartas pequenas quando comparada com as demais cultivares, enquanto as outras três cultivares não apresentam diferenças estatísticas entre si. Em relação às lagartas médias, observa-se os menores índices nas cultivares MG600PW e AG9030VTpro3, seguidas por um índice maior na

cultivar convencional SW5560 e EXP3320YG, embora não existam diferenças estatísticas entre as cultivares AG9030VTpro3 e convencional SW5560 quando comparadas entre si. Em relação ao índice de lagartas grandes, observa-se novamente um índice menor na cultivar MG600PW, seguida por um índice maior para as cultivares AG9030VTpro3 e convencional SW5560, as quais não apresentaram diferenças estatísticas entre si. A cultivar EXP3320YG apresentou o maior índice de lagartas grandes entre todas as cultivares avaliadas. No que diz respeito ao total de lagartas, o maior índice ocorreu na cultivar EXP3320YG e os menores índices nas cultivares MG600PW, AG9030VTpro3 e convencional SW5560. Não houve diferenças significativas quanto ao número de posturas de *S. frugiperda* entre as cultivares. Considerando a nota de dano, as cultivares diferiram estatisticamente, com a menor nota de dano observada para a cultivar MG600PW, e a maior nota de dano registrada para a cultivar EXP3320YG.

Ocorrência de herbívoros alvos e não-alvos e predadores

Nas quatro áreas em que as avaliações foram realizadas, observou-se que o número de herbívoros alvo foi maior na cultivar EXP3320YG com grande abundância de *S. frugiperda* (321) durante todo o período amostral e AG9030VTpro3 com *S. frugiperda* (133), *H. zea* (78) e *D. speciosa* (68). A cultivar MG600PW apresentou os menores números de herbívoros alvo com *S. frugiperda* (68) comparado com as outras duas cultivares transgênicas. A cultivar convencional SW5560 apresentou grande quantidade de *S. frugiperda* (170) e *D. speciosa* (126). Comparando as três cultivares transgênicas avaliadas o maior número de pragas ocorreu na EXP3320YG e o menor número na MG600PW.

A grande quantidade de pragas na cultivar EXP3320YG se deve ao fato de que nesta área não ocorreu uma grande quantidade de predadores como *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae) que exercem o controle natural das pragas, o que ocorre na cultivar MG600PW que apresentou o menor número de pragas sendo esta a cultivar apresentou um grande número de predadores como *D. luteipes* durante todo o período amostral.

Com relação aos predadores observou-se que este número foi maior nas cultivares MG600PW com grande soma de *D. luteipes* (80), AG9030VTpro3 com grande quantidade de *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) (65), e convencional SW5560 com elevado número de *C. sanguinea* (41) enquanto a cultivar EXP3320YG apresentou o menor número de predadores durante as avaliações realizadas sendo o menor número obtido para Chrysopidae . Comparando as três cultivares transgênicas avaliadas o maior número de predadores ocorreu na MG600PW e o menor número na EXP3320YG.

Dinâmica populacional de herbívoros e predadores

A cultivar EXP3320YG apresentou o maior número de indivíduos herbívoros (108) na sexta avaliação, estágio R1; enquanto a cultivar MG600PW apresentou o maior número de indivíduos herbívoros (35) na décima terceira avaliação, estágio R6; o mesmo também ocorreu na cultivar AG9030VTpro3 com o maior número de indivíduos herbívoros (104) na décima terceira avaliação, estágio R4; a cultivar convencional SW5560 apresentou o maior número de indivíduos herbívoros (66) na décima avaliação, estágio R2 (Figura 2).

Com relação aos predadores, a cultivar EXP3320YG apresentou o maior número de predadores (9) na nona avaliação, estágio R2; enquanto a cultivar MG600PW

apresentou o maior número de predadores (33) na décima primeira avaliação, estágio R5; na cultivar AG9030VTpro3 ocorreu o maior número de predadores (24) na décima segunda avaliação, estágio R3; a cultivar convencional SW5560 apresentou o maior número de predadores (23) na décima quinta avaliação, estágio R6 (Figura 2).

Quanto à influência dos fatores climáticos, podemos observar que na cultivar EXP3320YG os maiores números de herbívoros ocorreram na 6ª amostragem (108 indivíduos com 22,4°C, 80% U.R e 28,7mm de precipitação), 7ª amostragem (92 indivíduos com 22,4°C, 79% U.R e 22,3mm de precipitação), e na 8ª amostragem (61 indivíduos com 21,1°C, 89% U.R e 90,6mm de precipitação). Os menores números de herbívoros ocorreram na 3ª amostragem (35 indivíduos com 22,7°C, 82% U.R e 37,7mm de precipitação), e na 5ª amostragem (35 indivíduos com 18,1°C, 76% U.R e 48mm de precipitação). O maior número de predadores ocorreu na 9ª amostragem (13 indivíduos com 22,5°C, 85% U.R e 2,1 mm de precipitação). Na cultivar MG600PW, o maior número de herbívoros ocorreu na 13ª amostragem (35 indivíduos com 20,4°C, 68% U.R e 0,0mm de precipitação), o menor número de herbívoros ocorreu na 7ª amostragem (3 indivíduos). O maior número de predadores ocorreu na 11ª amostragem (33 indivíduos com 17,6°C, 83% U.R e 41,3 mm de precipitação), e o menor número de predadores ocorreu na 4ª amostragem (3 indivíduos com 20,5°C, 80% U.R e 31,8mm de precipitação). Na cultivar AG9030VTpro3 o maior número de herbívoros ocorreu na 13ª amostragem (104 indivíduos), enquanto o menor número de herbívoros ocorreu na 4ª amostragem. O maior número de predadores ocorreu na 12ª amostragem (24 indivíduos com 19°C, 80% U.R e 15,6mm de precipitação), e o menor número de predadores ocorreram na 10ª amostragem (1 indivíduo com 19°C, 79% U.R e 0,3mm de precipitação). Na cultivar convencional SW5560, o maior número de herbívoros ocorreu na 10ª amostragem (66 indivíduos). O maior número de predadores ocorreu na 15ª

amostragem (23 indivíduos com 19°C, 63% U.R e 0,0 mm de precipitação), e o menor número de predadores ocorreram na 2ª amostragem (1 indivíduo com 24,9°C, 84% U.R e 38,9 mm de precipitação).

A temperatura apresentou uma média de 20,78°C, sendo que a temperatura mais alta foi de 24,9°C na segunda avaliação e a mais baixa de 17,6°C na décima primeira avaliação. A umidade relativa apresentou uma média de 78,2% sendo a umidade mais elevada na oitava avaliação com 89%, e a mais baixa na décima quinta avaliação com 63%. A precipitação durante as avaliações apresentou uma média de 23,82mm, sendo que o maior volume de chuva ocorreu na oitava avaliação com 90,6mm e o menor volume na décima avaliação com 0,3mm (Figura 3).

Quando se compara o estágio da cultura do milho em cada uma das áreas, a cultivar EXP3320YG apresentou o maior número de herbívoros na 6ª amostragem, estágio R1, em que ocorre o florescimento das plantas; e o menor número de herbívoros na 3ª e 5ª amostragens estágios V12 e Vt. O maior número de predadores ocorreu na 9ª amostragem, estágio R2. Na cultivar MG600PW, o maior número de herbívoros ocorreu na 13ª amostragem, estágio R6, e o menor número na 7ª amostragem estágio R2. O maior número de predadores ocorreu na 11ª amostragem estágio R5 e o menor número na 4ª amostragem, estágio R1. Na cultivar AG9030VTpro3, o maior número de herbívoros ocorreu 13ª amostragem, estágio R4, e o menor número na 4ª amostragem estágio V12. O maior número de predadores ocorreu na 12ª amostragem, estágio R3, e o menor número na 10ª amostragem, estágio R2. Na cultivar convencional SW5560, o maior número de herbívoros ocorreu 10ª amostragem, estágio R2, e o maior número de predadores ocorreu na 15ª amostragem, estágio R6; e o menor número na 2ª amostragem, estágio V8.

Diversidade de Artrópodes

A correlação de Pearson calculada na área plantada com EXP3320YG demonstrou uma alta influência positiva da umidade sobre a população dos herbívoros; já os predadores tiveram uma correlação positiva de fraca a moderada com a umidade relativa. Na cultivar MG600PW, os herbívoros tiveram uma correlação positiva considerada fraca com a temperatura, umidade e precipitação e os predadores apresentaram uma correlação fraca a moderada com a umidade e a precipitação. Na cultivar AG9030VTpro3, herbívoros e predadores apresentaram uma correlação negativa, com herbívoros sendo considerada de fraca a moderada e predadores fraca. Na cultivar convencional SW5560, herbívoros apresentaram uma correlação fraca a moderada e predadores uma correlação negativa, considerada fraca. Para o total das áreas herbívoros apresentaram uma correlação considerada fraca a moderada e predadores apresentam uma correlação fraca.

Discussão

Ao analisar as cultivares estudadas por meio das notas de danos atribuídas à injúria foliar de *S.frugiperda*, verifica-se que os danos provocados por esta praga alvo na cultivar EXP3320YG foram os mais severos comparando com as cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3, as quais apresentaram as menores notas de danos.

As tecnologias recentes, como MG600PW e AG9030VTpro3 apresentaram menores danos do que os ocasionados em Yieldgard (EXP3320YG) que é uma

tecnologia mais antiga. Estes resultados corroboram com Waquil et al. (2013) que observaram alta eficiência de controle de híbridos de milho expressando as proteínas Cry1A.105+Cry2Ab2 (VTPro) sobre *S. frugiperda*, enquanto que para híbridos de milho que expressam a proteína Cry1Ab (Yieldgard e Total Liberty) os autores concluem que essa tecnologia não apresenta mais eficiência de controle sobre essa praga.

Os danos severos provocados por *S. frugiperda* na cultivar EXP3320YG demonstram que a tecnologia Cry1Ab não é mais eficiente, pois a praga em questão, desenvolveu resistência às culturas Bt em resposta à forte pressão de seleção que esta tecnologia impõe sobre as populações de campo (Storer et al. 2012).

Estudos comprovam que a resistência de *S. frugiperda* à proteína Cry1Ab expressa no milho foi quebrada (Horikoshi et al. 2016; Omoto et al. 2016; Sousa et al. 2016). A evolução da resistência em populações de insetos-alvo pode reduzir os benefícios econômicos e ambientais de cultivos transgênicos (Farias et al. 2014).

Um estudo que avaliou os danos causados por *S. frugiperda* em milhos comerciais transgênico e convencional, observou que as cultivares transgênicas apresentaram as menores notas de dano em relação á convencional, que apresentou danos intermediários. As diferentes cultivares transgênicas avaliadas diferiram entre si com relação ao ataque da lagarta (Michelotto et al. 2011). Ao avaliar os danos de *S. frugiperda* em campos de milho, Michelotto et al. (2013) também constataram as menores notas de danos em cultivares transgênicas quando comparadas com as convencionais. Nais et al. (2013) avaliaram a infestação natural de *S. frugiperda* e respectivas injúrias em condições de campo em milho transgênico e convencional em duas épocas de semeadura e em duas regiões. As cultivares convencionais foram as que apresentaram maior infestação de lagartas e as maiores médias de notas de danos.

Moraes et al. (2015) avaliaram diferentes cultivares transgênicas na safra de 2010/2011 e 2011/2012, e verificaram as menores notas de dano nos híbridos contendo a tecnologia transgênica.

De forma semelhante, Resende et al. (2016) em um estudo em sete municípios de Minas Gerais, Brasil, em campos com milho transgênico expressando diferentes proteínas Bt, comparando com uma convencional, avaliaram a abundância de *S. frugiperda* e observaram que os campos de milho transgênico apresentaram menor abundância da praga em relação aos campos de milho convencional em que a abundância foi elevada.

Um outro estudo realizado em campo não observou diferenças na comunidade de insetos para os índices de riqueza, diversidade e equitabilidade nos tratamentos avaliados. As diferenças entre milho Bt e convencional somente foi detectada ao analisar espécies e não a comunidade de insetos (Frizzas et al. 2017).

Outros estudos também relataram o não efeito de toxinas Bt em um grande número de insetos não-alvo. Por exemplo, Habustova et al. (2014) em um estudo de campo de três anos com milho Bt e não Bt, mostrou que não houve efeitos sobre os insetos não-alvo. Da mesma forma, Guo et al. (2014), Szenasi et al. (2014), Truter et al. (2014), Svobodová et al. (2015), Svobodová et al. (2016), não encontraram diferenças significativas entre os campos de milho Bt e não-Bt expressando diferentes proteínas Bt sobre a diversidade e abundância de artrópodes não-alvo.

As condições no campo são complexas e diversos fatores não podem ser controlados, como o clima, temperatura, diferentes tipos de presas e hospedeiros, preferência por determinada presa ou hospedeiro, e competição entre inimigos, que são fatores que podem influenciar os resultados finais (Guo et al. 2016).

A cultivar EXP3320YG comparada com as cultivares MG600PW e AG9030VTpro3 se destacou com relação a quantidade de pragas como *S. frugiperda* o que demonstra que está tecnologia já não apresenta mais eficiência para o controle dessa praga. A grande quantidade de pragas na cultivar EXP3320YG ocorreu, pois nesta área não houve uma grande quantidade de predadores como *D. luteipes* que exercem o controle natural das pragas, o que ocorre na cultivar MG600PW que apresentou o menor número de pragas sendo esta a cultivar que apresentou um grande número de predadores como *D. luteipes* durante todo o período amostral.

Os resultados demonstram que as cultivares avaliadas apresentaram diferenças em relação ao ataque de *S. frugiperda*, com a cultivar EXP3320YG apresentando os maiores danos, demonstrando que esta praga evoluiu resistência á toxina Cry1Ab. Nesse contexto o manejo de resistência de insetos torna-se fundamental dentro do MIP, pois permite que essa tática de controle permaneça viável para uso ao longo prazo.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Bernardi O Albernaz KC, Valicente FH and Omoto C. 2011a. Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas. In: Borém, A.; Almeida, G.D. de. (Org.). Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais. Visconde do Rio Branco: Suprema, v. 1, p. 181-207.
- Bernardi O, Bernardi D, Horikoshi RJ and Omoto C. 2016b. Manejo da resistência de insetos a plantas Bt. 1ª Edição Engenheiro Coelho / SP PROMIP.

- Blanco CA, Chiaravalle W, Dalla-Rizza M, Farias JR, García-Degano MF, Gastaminza G, Mota-Sánchez D, Murúa MG, Omoto C, Pieralisi BK, Rodríguez J, Rodríguez-Maciel JC, Terán-Santofimio H, Terán-Vargas AP, Valencia SJ and Willink E. 2016. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. *Curr Opin Insect Sci* 15: 131–138.
- Brookes G and Barfoot P. 2013. The global income and production effects of genetically modified (GM) crops 1996–2011. *GM Crops and Food* 4:74–83.
- Chen M, Ye GY, Liu ZC, Yao HW, Chen XX, Shen ZC, Hu C and Datta SK. 2006. Field assessment of the effects of transgenic rice expressing a fused gene of Cry1ab and Cry1ac from *Bacillus thuringiensis* berliner on nontarget planthopper and leafhopper populations. *Environ Entomol* 35, 127–134. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.1.127>.
- Davis FM and Williams WP. 1989. Methods used to screen maize for and to determine mechanisms of resistance to the southwestern corn borer and fall armyworm. In: *International Symposium on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insect*, 1989, México. Proceedings... México: [s.n.], p. 101-108.
- Dutton A, Klein H, Romeis J and Bigler F. 2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol Entomol* 27, 441–447. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2002.00436.x>.
- Eckert J, Schuphan I, Hothorn LA and Gathmann A. 2006. Arthropods on maize ears for detecting impacts of Bt maize on nontarget organisms. *Environ Entomol* 35, 554–560. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.2.554>.

- Farias JR, Andow DA, Horikoshi RJ, Sorgatto RJ, Fresia P, Santos AC and Omoto C. 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Prot, Guildford*, 64:150-158. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.019>.
- Fatoretto JC, Michel AP, Filho MCS and Silva N. 2017. Adaptive Potential of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Limits Bt Trait Durability in Brazil. *J Integr Pest Manag*, 8:17; 1–10.
- Fernandes OD, Parra JRP, Neto AF, Pícoli R, Borgato AF, Demétrio CGB. 2003. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.2, p.25-35.
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc Agrotec (UFPA)*, v.35, n.6, p. 1039-1042. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>.
- Frizzas MR, Oliveira CM and Omoto C. 2017. Diversity of insects under the effect of Bt maize and insecticides. *Arq Inst Biol (online)*, v. 84, p. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000062015>.
- García M, Ortego F, Castañera P and Farinós GP. 2012. Assessment of prey-mediated effects of the coleopteran-specific toxin Cry3Bb1 on the generalist predator *Atheta coriaria* (Coleoptera: Staphylinidae). *Bull Entomol Res* 102, 293–302. doi: 10.1017/S0007485311000666.
- Guo Y, Feng Y, Ge Y, Tetreau G, Chen X, Dong X and Shi W. 2014. The cultivation of Bt corn producing cry1Ac toxins does not adversely affect non-target arthropods. *Plos one* 9 e114228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114228>.

- Guo J, He K, Hellmich RL, Bai S, Zhang T, Liu Y, Ahmed T and Wang Z. 2016. Field trials to evaluate the effects of transgenic cry1Ie maize on the community characteristics of arthropod natural enemies. *Sci Rep* doi: 10.1038/srep22102.
- Habustova O, Dolezal P, Spitzer L, Svobodova Z, Hussein H and Sehnal F. 2014. Impact of Cry1Ab toxin expression on the non-target insects dwelling on maize plants. *J Appl Entomol* 138:164–172. <https://doi.org/10.1111/jen.12004>
- Horikoshi RJ, Bernardi O, Bernardi D, Malaquias JB, Okuma DM, Miraldo LL, Amaral FSA and Omoto C. 2016. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. *Sci Rep*, 6:34864. doi: 10.1038/srep34864.
- Huang J, Hu R, Rozelle S and Pray C. 2005. Insect-resistant GM rice in farmers' fields: assessing productivity and health effects in China. *Science*, 308:688–690. doi:10.1126/science.1108972.
- Huang F, Ghimire MN, Leonard BR, Wang J, Daves C, Levy R, Cook D, Head GP, Yang Y, Temple J and Ferguson R. 2011. F2 screening for resistance to pyramided *Bacillus thuringiensis* maize in Louisiana and Mississippi populations of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Pest Manag Sci*, v.67, n.10, p.1269-1276. <https://doi.org/10.1002/ps.2182>.
- Isaaa. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops in 2017: Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. *ISAAA Brief* No. 53. ISAAA: Ithaca, NY.
- Li Y and Romeis J. 2010. Bt maize expressing Cry3Bb1 does not harm the spider mite, *Tetranychus urticae*, or its ladybird beetle predator, *Stethorus punctillum*. *Biological Control* 53, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.12.003>

- Machado V and Fiuza LM. 2011. Manejo da resistência: na era das plantas transgênicas. *Oecol Aust*, v.15, p.291-302.
- McGaughey WH and Whalon ME. 1992. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Science*, 258:1451-1555.
- Meissle M, Vojtech E and Poppy G. 2005. Effects of Bt maize-fed prey on the generalist predator *Poecilus cupreus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Transgenic Res* 14, 123–132. doi: 10.1007/s11248-004-6458-4.
- Meissle M and Romeis J. 2009. The web-building spider *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae) is not adversely affected by Bt maize resistant to corn rootworms. *Plant Biotechnol J* 7, 645–656. doi: 10.1111/j.1467-7652.2009.00431.x.
- Michelotto MD, Pereira AD, Finoto EL and Freitas RS. 2011. Controle de pragas em híbridos de milho geneticamente modificados. *Pesquisa & Tecnologia*, v.8, n.73, p. 36-38.
- Michelotto MD, Crosariol Netto J, Freitas RS, Duarte AP and Busoli AC. 2013. Milho transgênico (*Bt*): efeito sobre pragas-alvo e não-alvo. *Nucleus*, Edição Especial, p. 67-82. <http://dx.doi.org/10.3738/nucleus.v0i0.903>.
- Moraes ARA de, Lourenção AL and Parteniani MEAGZ. 2015. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bragantia*, v.74, n.1, p.50-57. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.0367>.
- Nagoshi RN, Meagher RL and Hay-Roe M. 2012. Inferring the annual migration patterns of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the United States from mitochondrial haplotypes. *Ecol Evol*, 2:1458–1467. doi: 10.1002/ece3.268 ·

- Nais J, Busoli AC and Michelotto M.D. 2013. Comportamento de híbridos de milho transgênicos e respectivos híbridos isogênicos convencionais em relação à infestação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas localidades e épocas de semeadura. Arq Inst Biol, São Paulo, v.80, n.2, p.159-167. <http://dx.doi.org/10.1590/S1808-16572013000200004>.
- Naranjo SE. 2009. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 4:1–11. doi: 10.1079/PAVSNR20094011.
- Obrist LB, Dutton A, Albajes R and Bigler F. 2006. Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in Bt maize fields. Ecol Entomol 31, 143–154. <https://doi.org/10.1111/j.0307-6946.2006.00762.x>
- Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S and Head GP. 2016. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. Pest Manag Sci, 72(9):1727-36. doi: 10.1002/ps.4201.
- Pogue GM. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). Memoirs of the American Entomological Society, v. 43, p.117- 124.
- Pons X, Lumbierres B, Lopez C and Albajes R. 2005. Abundance of nontarget pests in transgenic Bt-maize: a farm scale study. Eur J Entomol 102, 73. doi: 10.14411/eje.2005.010.
- Resende DC, Mendes SM, Marucci RC, Silva AC, Campanha MM and Waquil JM. 2016. Does Bt maize cultivation affect the non-target insect community in the agro ecosystem? Rev Bras Entomol (Impresso).v.60, p.82-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2015.12.001>.

- Ritchie SW, Hanway JJ, Benson GO. 1986. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology. <<http://publications.iowa.gov/18027/1/How%20a%20corn%20plant%20develop%20s001.pdf>>. Acesso em: 12 de Abril de 2019.
- Rosa APSA. 2011. Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho. Pelotas: EMBRAPA,2011.<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37326/1/Monitoramento-da-lagarta.pdf>> Acesso em: 12 de abril de 2019.
- Shikamura SE. 2008. Estatística II. Curitiba: Departamento de Estatística, UFPR. Disponível em: <<http://leg.ufpr.br/~silvia/CE003/node74.html>>. Acesso em 12 de Dezembro de 2018.
- Sousa FF, Mendes SM, Santos-Amaya OF, Araújo OG, Oliveira EE and Pereira EJG. 2016. Life-history traits of *Spodoptera frugiperda* populations exposed to low-dose Bt maize. PloS One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156608>.
- Stephens EJ, Losey JE, Allee LL, Di Tommaso A, Bodner C and Breyre A. 2012. The impact of Cry3Bb Bt-maize on two guilds of beneficial beetles. Agric Ecosyst Environ 156, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.05.002>.
- Storer NP, Thompson GD and Head GP. 2012. Application of pyramided traits against Lepidoptera in insect resistance management for Bt crops. GM Crops and Food 3: 154–162.
- Svobodová Z, Skoková HO, Hutchison WD, Hussein HM and Sehnal F. 2015. Risk assessment of genetically engineered maize resistant to *Diabrotica* spp.: influence on above-ground arthropods in the Czech Republic. Plos One 10: e0130656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130656>.
- Svobodová Z, Skoková HO, Boháč J and Sehnal, F.2016. Functional diversity of staphylinid beetles (Coleoptera: Staphylinidae) in maize fields: testing the

- possible effect of genetically modified, insect resistant maize. *Bull Entomol Res* 106:1–14. <https://doi.org/10.1017/S000748531500111X>.
- Szenasi A, Palinkas Z, Zalai M, Schmitz OJ and Balog A. 2014. Short-term effects of different genetically modified maize varieties on arthropod food web properties: an experimental field assessment. *Sci Rep* 4: 1–7. doi: 10.1038/srep05315.
- Truter J, Van Hamburg H and Van Den Berg J. 2014. Comparative diversity of arthropods on Bt maize and non-Bt maize in two different cropping systems in South Africa. *Environ Entomol* 43 (1), 197-208. <https://doi.org/10.1603/EN12177>.
- Waquil JMW, Patrick MD, Carvalho RA, Wladecir SO, Berger GU, Head GP and Martinelli S. 2013. Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento Bt piramidado Cry1A.105 e Cry2Ab2. *Pesq Agropec Bras*, Brasília v.48, n.12, p.1529-1537. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013001200001>.
- Wang YM, Zhang GA, Du JP, Liu B and Wang MC. 2010. Influence of transgenic hybrid rice expressing a fused gene derived from cry1Ab and cry1Ac on primary insect pests and rice yield. *Crop Prot*, 29:128–133. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.10.004>.
- Westbrook JK, Nagoshi RN, Meagher RL, Fleischer SJ and Jairam S. 2015. Modeling seasonal migration of fall armyworm moths. *Int J Biometeorol* 60:255–267. doi:10.1007/s00484-015-1022-x.

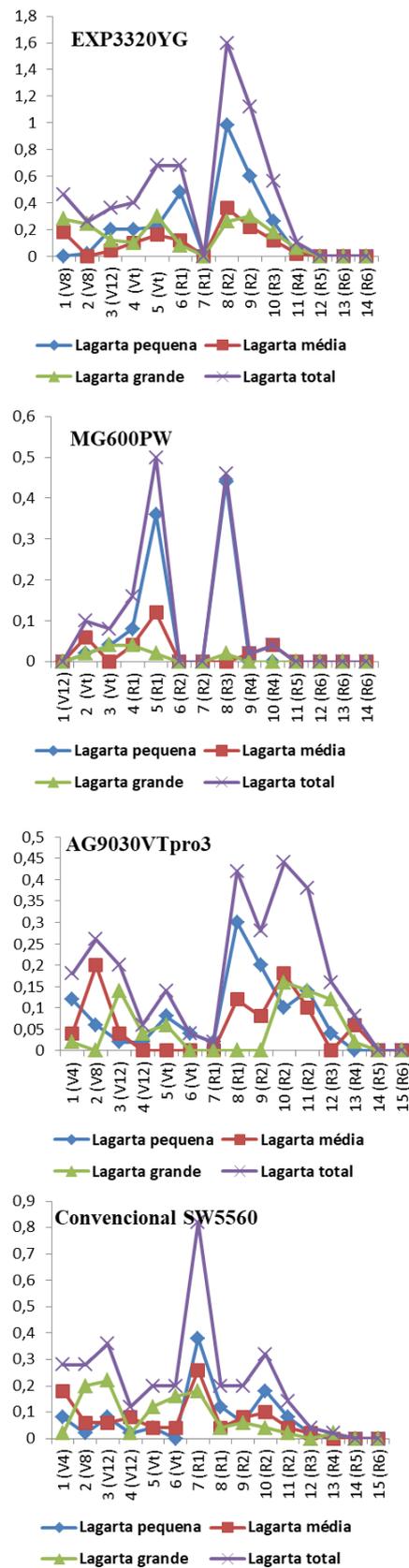


Figura 1. Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em quatro cultivares de milho (*Zea mays*). Dourados, MS, 2017.

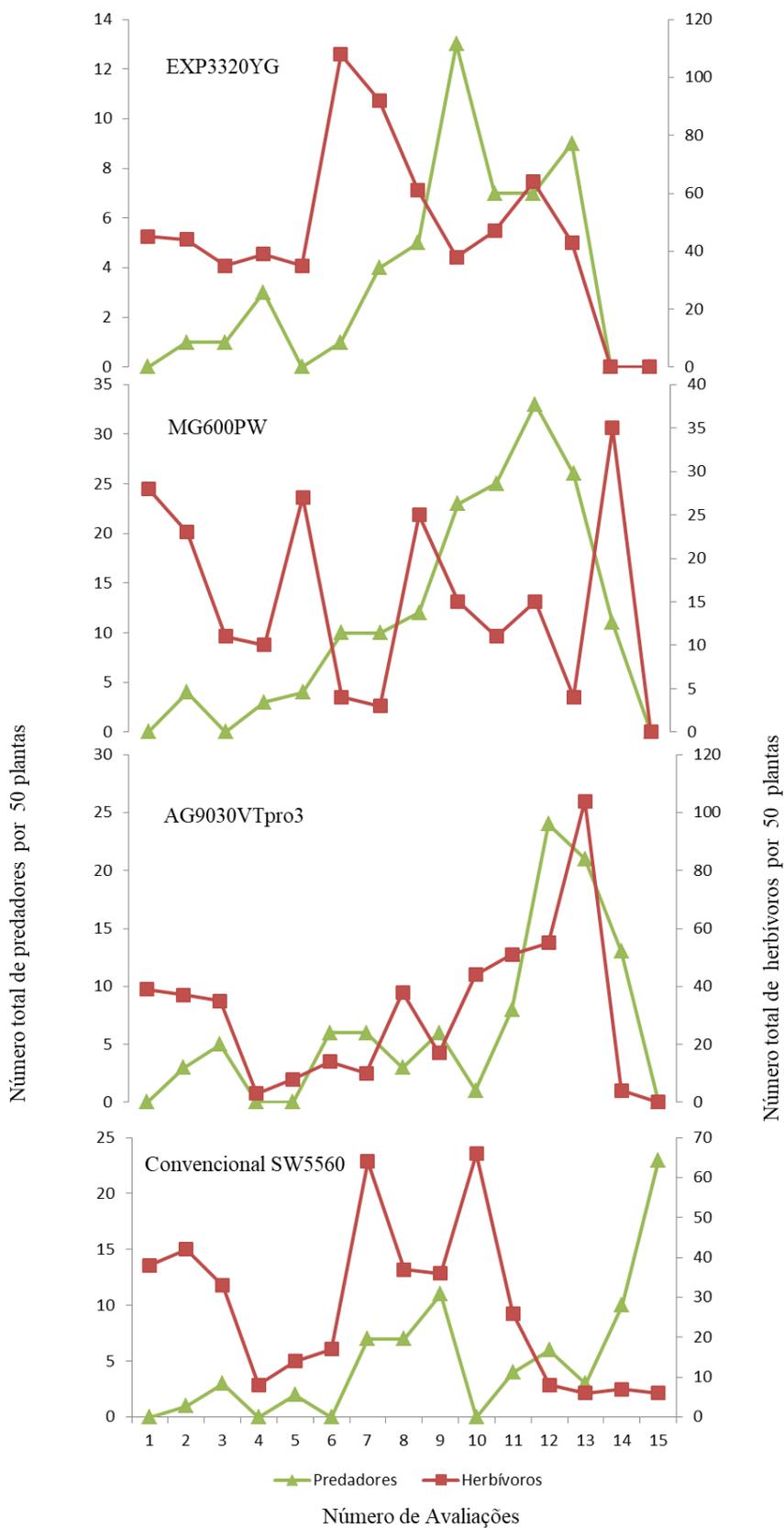


Figura 2. Dinâmica populacional de predadores e herbívoros em quatro cultivares de milho (*Zea mays*). Dourados, MS, 2017.

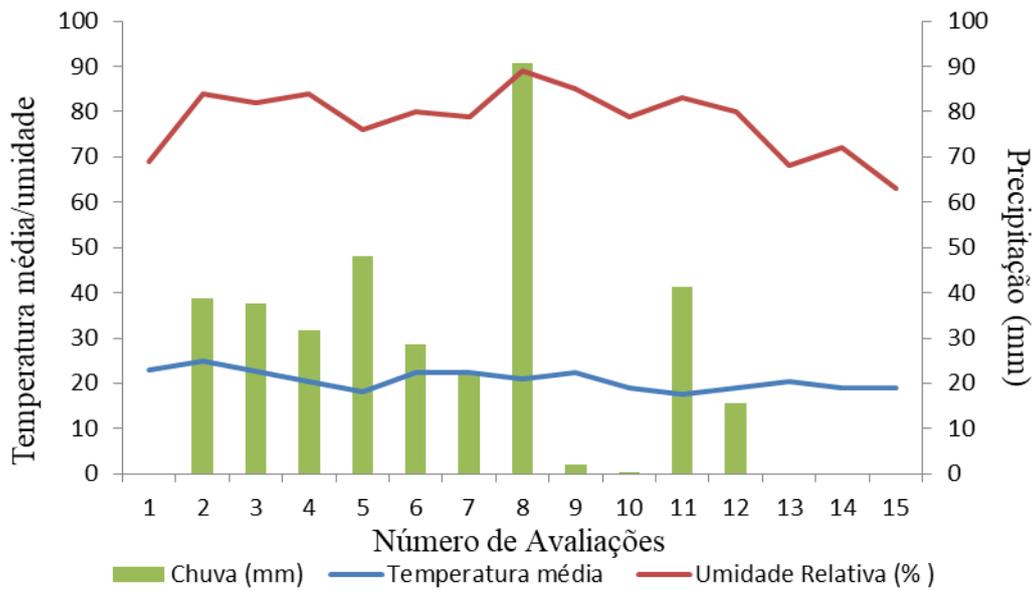


Figura 3. Temperatura média/umidade relativa e precipitação (mm) nas áreas EXP3320YG, MG600PW, AG9030VTpro3 e Convencional SW5560. Dourados, MS, 2017.

Considerações finais

Os resultados demonstraram que a cultivar EXP3320YG apresentou a menor riqueza e dominância de espécies, enquanto nas demais cultivares estes índices não diferiram. Os índices de Shannon e Simpson nas cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3 não são afetados quando se compara com a cultivar convencional.

A cultivar EXP3320YG apresentou as maiores notas para o ataque de *S. frugiperda* quando comparada com as cultivares transgênicas MG600PW e AG9030VTpro3, o que demonstra que a tecnologia EXP3320YG já não apresenta mais eficiência para o controle dessa praga.

Estudos da comunidade de artrópodes alvo e não- alvo em milho comercial transgênico são importantes para implementar medidas de manejo da resistência com intuito de prolongar a vida útil destas tecnologias.