

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

**EFEITOS DO PÓLEN DE ALGODÃO Bt (CRY1Ac +
CRY1F) EM ALGUMAS CARACTERÍSTICAS
BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

Anderson José da Silva Guimarães

Dourados-MS
Abril/2018

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

Anderson José da Silva Guimarães

**EFEITOS DO PÓLEN DE ALGODÃO Bt (CRY1Ac +
CRY1F) EM ALGUMAS CARACTERÍSTICAS
BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)**

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes

Dourados-MS
Abril/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

G963e Guimaraes, Anderson Jose Da Silva
Efeitos do pólen de algodão bt (CRY1ac + CRY1f) em algumas características biológicas de *Trichogramma pretiosum* riley, 1879 (Hymenoptera: trichogrammatidae) / Anderson Jose Da Silva Guimaraes -- Dourados: UFGD, 2018.
44f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Marcos Gino Fernandes

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

Inchi bibliografia

1. *Gossypium hirsutum*. 2. Parasitóide. 3. Transgênico. I. Título.

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

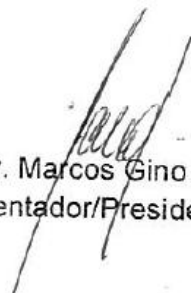
©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**"INFLUÊNCIA DO PÓLEN DE ALGODÃO BT (CRY1AC + CRY1F) EM
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)".**


Por

ANDERSON JOSÉ DA SILVA GUIMARÃES

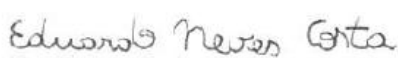
Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Dr. Marcos Gino Fernandes
Orientador/Presidente - UFGD



Dr.ª Carla Cristina Dutra de Aquino
Membro titular - Monsanto do Brasil



Dr. Eduardo Neves Costa
Membro titular - UFGD

Aprovada em: 05 de abril de 2018

Biografia do Acadêmico

Anderson José da Silva Guimarães, natural da cidade de Rondonópolis, Mato Grosso. Nascido no dia 06 de Abril de 1984, filho de Firmino José Alves Guimarães e Abeniltes Maria da Silva Guimarães, cursou o ensino básico e médio na Escola Estadual Profº Domingos Aparecido dos Santos em Rondonópolis.

No ano de 2002 ingressou na Faculdade onde obteve o título de engenheiro agrônomo no ano de 2005 e no decorrer da graduação fez em estágio na Embrapa Cenargen no ano de 2005, onde descobriu o seu amor pela entomologia. Atualmente desenvolve projeto relacionado Controle Biológico no Manejo Integrado de Pragas, no Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD.

AGRADECIMENTOS

Chegar para louvar e agradecer a Deus que me criou, ao ventre que me gerou e a mão da doçura que me desenhou.

Agradecer aos meus ancestrais que de onde estão me mantém firme nessa caminhada e me fazem acreditar na beleza e nos encantos da vida, mesmo eu sendo uma pedra tão pequenina como as outras miudinhas no firmamento.

Agradecer a natureza, pois nela que trabalho e sem ela, jamais eu seria capaz de realizar minha pesquisa e me apaixonar cada dia mais pelo que faço.

Louvar a água vermelha da minha terra (Rondonópolis-MT), agradecer a essa cidade, ao chão vermelho (Dourados-MS) que me sustenta e a todo esse povo lindo que me recebeu quando aqui cheguei há três anos.

Ao meu orientador Prof^o. Dr. Marcos Gino Fernandes, pela sua confiança em aceitar a me orientar mesmo antes me conhecer, pelo apoio e acima de tudo pelos ensinamentos acadêmicos e o seu exemplo como profissional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da Bolsa de Estudo e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade e apoio.

A todos os professores (em especial a minha mãe Abeniltes Maria, minha tia Abnete Carmo e ao meu tio Benedito Santana) que contribuíram em minha formação acadêmica, desde as séries iniciais até o mestrado.

A todos os colegas que trabalham no (LAMI) Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos da Faculdade Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, tais como: Fabiana, Letícia, Milena e Paulo pela convivência e apoio.

Agradeço em especial a Minha amiga e colega de Laboratório Ms. Maria Freire de Souza por todo ensinamento, amizade, apoio durante todo esse tempo de aprendizado.

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

As minhas amigas as quais a pós-graduação me proporcionou: Manuela Scarpa, Tarcila Rech, Maria Freire pela parceria, ensinamentos, e acima de tudo pela amizade, amor e carinho.

As minhas amigas Rejane Eugênio, Thawanne Palácio, Jucilene Assunção por todo apoio, carinho, amizade, companheirismo e acolhimento em Dourados.

E por último, não menos especial, mas, os mais especiais agradeço, aos meus pais Abeniltes Maria e Firmino José por todo amor, carinho e acima de tudo pelo apoio incondicional e confiança. A vocês **minha eterna gratidão e o meu eterno amor!**

Aos meus amigos e familiares agradeço pelo carinho, atenção e compreensão nesses momentos distante e continuam gostando de mim, apesar de mim.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente a realização deste trabalho, meu muito obrigado!

Aos meus pais **Firmino José e Abeniltes Maria**

Que com carinho e amor incondicional, me criaram e educaram.

E tudo o que sou hoje, devo a eles.

Que sorte a minha, ter vocês como pais!

Dedico

“Vou aprender a ler
Pra ensinar os meus camaradas!”
(Jose Carlos Capinam / Roberto Mendes)

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO I. Revisão de Literatura.....	15
OBJETIVOS.....	20
HIPÓTESE.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
CAPÍTULO II. Efeitos do pólen de algodão Bt (CRY1Ac + CRY1F) em algumas características biológicas de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)	
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	27
1. Introdução.....	28
2. Material e Métodos.....	30
3. Resultados.....	33
4. Discussão.....	38
5. Conclusão.....	41
6. Agradecimentos.....	41
7. Referências.....	42

RESUMO GERAL

GUIMARÃES, A.J.S. Universidade Federal da Grande Dourados, Abril de 2018. **Efeitos do pólen de algodão Bt (Cry1Ac + Cry1F) em algumas características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:Trichogrammatidae).**

Orientador: Marcos Gino Fernandes.

Trichogramma faz parte de um complexo de inimigos naturais utilizados em programa de manejo integrado de pragas. Com o avanço da biotecnologia e a utilização de plantas geneticamente modificadas com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), faz com que as plantas transgênicas tenham uma grande notoriedade no cenário agrícola mundial. O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do pólen de algodão Bt, comparativamente com o pólen de algodão não-Bt, sobre as características biológicas de fêmeas adultas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Para isso foi desenvolvido o seguinte trabalho: Características Biológicas de *T. pretiosum* alimentados com pólen de algodão. Foram realizados três tratamentos (dietas): pólen de Algodão convencional (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de Algodão transgênico (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%) e solução de mel puro (controle). Cada uma das dietas foi utilizada como fonte de alimentação para 30 fêmeas recém-emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade), individualizadas em microtubos tipo eppendorf (4,5 cm) contendo uma cartela de (4,5 x 0,9 cm) com 40 ovos de *E. kuehniella*. O parasitismo foi permitido por 24h. O delineamento experimental foi casualizado com 30 repetições com três tratamentos. Cada repetição consistia de uma fêmea de *T. pretiosum* individualizada. O parasitismo apresentou diferença quando alimentado com pólen Bt tendo uma baixa porcentagem de parasitismo na segunda geração. Na viabilidade do parasitismo, o tratamento com pólen convencional houve diferença significativa. Sobre o número de indivíduos por ovos, a terceira (1,20) e a quarta (0,62) geração quando alimentados com pólen Bt. Na razão sexual, a terceira geração obteve o maior valor (0,96), assim diferindo das demais. A terceira e quarta geração as fêmeas tiveram uma maior longevidade quando alimentadas com mel. A ingestão de pólen Bt via dieta, não

influenciou de maneira expressiva as características biológicas do parasitoide *Trichogramma pretiosum* analisadas por quatro gerações.

Palavras Chaves: *Gossypium hirsutum*, parasitoide, transgênico.

ABSTRACT

GUIMARÃES, A.J.S. Federal University of Grande Dourados, April 2018. **Effects of Bt cotton pollen (Cry1Ac + Cry1F) on some biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae).**

Advisor: Marcos Gino Fernandes.

Trichogramma is part of a complex of natural enemies used in an integrated pest management program. With the advancement of biotechnology and the use of genetically modified plants with genes from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt), it makes the transgenic plants have a great notoriety in the world agricultural scene. The general objective of this work was to evaluate the effect of Bt cotton pollen on the biological characteristics of adult females of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) compared to non-Bt cotton pollen. For this, the following work was developed: Biological characteristics of *T. pretiosum* fed with cotton pollen. Three treatments (diets) were used: conventional cotton pollen (20 mg of pollen dissolved in 10% honey solution), transgenic cotton pollen (20 mg of pollen dissolved in 10% honey solution) and pure honey solution (control). Each of the diets was used as a feed source for 30 newly emerged and mated females (between 24 and 36 h of age), individualized in eppendorf type microtubes (4,5 cm) containing a (4.5 x 0,9 cm) with 40 eggs of *E. kuehniella*. Parasitism was allowed for 24 hours. The experimental design was randomized with 30 replicates with three treatments. Each repetition consisted of an individualized *T. pretiosum* female. The parasitism presented a difference when fed with Bt pollen having a low percentage of parasitism in the second generation. In the viability of parasitism, treatment with conventional pollen showed a significant difference. On the number of individuals per egg, the third (1.20) and fourth (0.62) generation when fed with Bt pollen. In sex ratio, the third generation obtained the highest value (0.96), thus differing from the others. The third and fourth generation females had a longer longevity when fed with honey. Intake of Bt pollen via diet did not significantly influence the biological characteristics of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* analyzed by four generations.

Keywords: *Gossypium hirsutum*, parasitoid, transgenic.

INTRODUÇÃO GERAL

Com o advento das plantas geneticamente modificadas na década de 1990, ocorreu uma rápida aceitação desta tecnologia em nível global (QUE et al., 2010). A área mundial cultivada com variedades transgênicas teve um aumento de mais de cem vezes, passando de 1,7 milhão de hectares em 1996 para mais de 185 milhões de hectares em 2016, o que torna essas cultivares a tecnologia agrícola mais adotada na história moderna. O Brasil foi o país que mais cresceu em todo mundo em termos de área cultivada com as culturas transgênicas, principalmente com as culturas: soja, atingindo 32,7 milhões de hectares; milho, com 15,7 milhões de hectares; e algodão, com 0,8 milhão de hectare cultivado (ISAAA, 2016).

Dentre essas três principais culturas, destaca-se, o algodão que é uma fibra de suma importância no mercado agrícola brasileiro tanto pelo seu volume e custo de produção, com um grande impacto na economia social do país ao criar uma grande quantidade de empregos de forma direta e indireta, é uma cultura afetada por uma grande variedade de espécie de inseto-praga, tendo assim um significativo comprometimento de sua produção. (Funichello et al.,2013)

Uma das formas de controle dos insetos pragas são os inimigos naturais e, dentre esses, no agroecossistema algodoeiro são as várias espécies de *Trichogramma*, que são pequenas vespas parasitoides que se desenvolvem dentro dos ovos da maioria de espécies lepidópteros. A criação massal de *Trichogramma* é utilizada em todo o mundo para controle biológico de pragas em diversas culturas agrícolas (Li, 1994; Smith, 1996). *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é uma das mais importantes espécies desse parasitoide de ovos (Sousa et al.; 2017).

A fim de que se tenha uma melhor eficiência dos programas de controle biológico, são necessários estudos com avaliação de suas características, pois muitos traços de comportamentos têm influência na variação genética intraespecífica e, sendo assim, há necessidade de saber a capacidade do agente biológico em ter uma resposta às condições do ambiente e, conseqüentemente, a sua sobrevivência em campo (Coelho et al., 2016).

Na presente dissertação realizou-se o estudo das características biológicas de fêmeas adultas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentadas com pólen de algodão Bt e não Bt, sob a hipótese de

que o pólen expressando as toxinas Cry1Ac e Cry1F afetam as características biológicas desse parasitoide.

CAPÍTULO I

Revisão de Literatura

1.1 Plantas geneticamente modificadas

Com o advento de plantas geneticamente modificadas na década de 1990, ocorreu uma rápida aceitação desta tecnologia (QUE et al., 2010). A área mundial cultivada com variedades transgênicas teve um aumento de mais de cem vezes, passando de 1,7 milhão de hectares em 1996 para mais de 185 milhões de hectares em 2016, o que torna as essas cultivares a tecnologia agrícola mais adotada na história moderna, sendo que o Brasil foi o país que mais cresceu em todo mundo em termos de área cultivada com as culturas transgênicas, principalmente com as culturas: soja, com 32,7 milhões de hectares; milho, com 15,7 milhões de hectares; e algodão, com 0,8 milhão de hectare cultivado (ISAAA, 2016).

Tendo como exemplo de países em desenvolvimento como a Índia e China, as plantas geneticamente modificadas apresentam um grande potencial de impacto, especialmente no suporte socioeconômico, já que os mesmos têm a sua economia com base na agricultura de subsistência, e essas plantas podem causar impactos econômico e ambiental substanciais (Gayen et al., 2015).

O uso de plantas geneticamente modificadas com genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) para o controle de lepidópteros pragas, tem tido uma grande notoriedade no cenário mundial da agricultura (Viana et al., 2014). Por ser uma bactéria aeróbica, a mesma após a sua esporulação forma cristais, os quais são chamados de Cry e na maioria das vezes possuem caráter inseticida, sendo que mundialmente as formulações com base em *Bt* são muito utilizadas, sendo responsáveis por até 50% do mercado de bio-praguicidas pulverizáveis (Bashir et al., 2016).

As variedades de milho e algodão que sintetizam as proteínas inseticidas de *Bt*, tiveram vários benefícios, entre eles a redução do uso de inseticidas, a supressão e controle de pragas, a preservação dos inimigos naturais decorrendo no aumento nos lucros (Brevault et al., 2013).

Nas culturas resistentes os inimigos naturais podem ser afetados com certa frequência, principalmente os parasitoides, uma vez que as larvas dependem

diretamente da qualidade e abundância do inseto hospedeiro, assim como os adultos dependem da qualidade das plantas em relação ao oferecimento de pólen e néctar para a alimentação (Azimi et al., 2014).

Apesar das plantas *Bt* continuarem sendo efetivas contra a grande maioria das populações de pragas, várias pragas adquiriram resistência, mas o fornecimento de plantas hospedeiras que não produzem toxinas *Bt*, continua sendo a principal estratégia a fim de atrasar a resistência das pragas as culturas *Bt* (Tabashnik et al., 2010). Por causa da permanente produção de toxina *Bt* pelas plantas transgênicas em seu ciclo de vida, tem se a necessidade de estudar o seu efeito em artrópodes não-alvo (Héma et al., 2017), com um maior destaque nos inimigos naturais.

1.2 Cultura do Algodão

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma cultura de extrema importância para o Brasil, pois além de ser uma das três principais culturas plantadas no país, a mesma possui na sua fibra a principal matéria-prima da indústria têxtil brasileira, mesmo diante do crescimento da utilização da fibra do algodão, o uso do caroço, que é um subproduto, tem uma grande representatividade como fonte energética, tornando-se importante na alimentação animal, comércio alimentício, combustíveis e etc. (CONAB, 2017).

O algodão é uma fibra de suma importância no mercado agrícola brasileiro tanto pelo seu volume e custo de produção, sendo que o mesmo também tem um grande impacto na economia social do país ao criar uma grande quantidade de empregos de forma direta e indireta, mas essa cultura pode ser afetada por uma grande variedade de espécie de inseto-praga, tendo assim um significativo comprometimento de sua produção. (Funichello et al., 2013)

A cultura do algodoeiro, abriga uma grande diversidade de pragas que podem causar danos em todas as partes da planta, com destaque na sua parte reprodutiva (botões florais, flores e capulhos) onde o nível de infestação das pragas causam prejuízos imensuráveis a esta cultura (Melo et al., 2015).

No entanto, quando as práticas de controle no manejo integrado de pragas (MIP) são bem aplicadas, tem se um sucesso do controle destas pragas, e assim fazendo com que o uso do MIP tenha uma grande demanda a fim de ocasionar um menor impacto

ambiental e uma maior economia com relação ao cultivo do algodão e assim tendo uma grande contribuição na manutenção e suporte das novas e antigas tecnologias utilizadas. (Melo et al., 2015)

Como exemplo da elevada expansão das culturas transgênicas, as quais têm a expressão de proteínas do *Bacillus thuringiensis*, podemos citar Burkina Faso na África Ocidental, que entre os anos de 2009 e 2014, teve um aumento de 260% na expansão destas culturas, sendo que o algodão transgênico está comercialmente disponível neste local desde 2009 (Héma et al., 2017).

Estima que 65% do algodão cultivado no ano de 2014 em Burkina Faso foi o transgênico, e que teve como principal praga a lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) que tem um difícil controle, pois a mesma já adquiriu resistência ao piretroides que é o principal componente da família de inseticidas utilizado no seu controle (Héma et al., 2017).

No ano de 1996 ocorreu a comercialização da primeira variedade de algodão Cry1Ac de *B. thuringiensis* Berliner (Bollgard®, Monsanto Ag. Co., St. Louis, MO) com grandes avanços em relação a questão de controle de insetos com plantas transgênicas, sendo que as variedades de algodão podem conter Cry1Ac ou podendo ser empilhadas com Cry2Ab (Bollgard® II, Monsanto Ag. Co.) ou Cry1F (Wide-Strike®, Dow Agrosiences, Indianapolis, IN) (Adamczyk e Gore, 2004). A substituição do algodão Cry1Ac por plantas piramidadas teve o estímulo por causa da evolução da resistência de insetos, tendo assim uma central estratégia do uso de duas toxinas, sendo que o inseto resistente a uma toxina será morto pela outra e assim essa estratégia de controle, sendo chamada de “matança redundante” (Brevault et al., 2013).

1.3 *Trichogramma*

O estudo com *Trichogramma* na América do Sul são recentes, sendo que as primeiras descrições foram feitas em 1973 para o *T. rojas* no Chile e em 1980 para o *T. maxacalli* no Brasil (Querino; Zucchi, 2011).

Os parasitoides *Trichogramma* são comumente empregues em liberações inundativas com perspectiva de efeito imediato sobre a praga, sendo exigido uma alta quantidade deste parasitoide com excelente qualidade para que essas liberações ocorram em local e momento exato (Parra et al., 2002).

A associação de inimigos naturais com agrotóxicos continua tendo uma grande importância no Manejo Integrado de Pragas (MIP) a fim de ajudar na estruturação de sistemas de cultivos com maior sustentabilidade, entretanto o uso indiscriminado destes agrotóxicos sintéticos em agroecossistemas apresenta grande impacto em diversas espécies incluindo os inimigos naturais de pragas de grande importância e impacto (Khan; Ruberson, 2017). Visto que um dos princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP) tem uma série de medidas focadas em diminuir o uso de agrotóxicos, como o uso de agentes não-químicos tais como plantas resistentes, inimigos naturais (predadores e parasitoides) para o controle de pragas (Azimi et al., 2014).

Monoculturas agrícolas, como o milho, permitem pressões de seleção sobre os insetos, favorecendo a multiplicação de determinadas espécies através do aumento da disponibilidade de alimento. O controle biológico é uma das ferramentas do Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois atende aos pré-requisitos básicos de eficiência em campo e biossegurança, é compatível com outras estratégias do MIP, de custo relativamente baixo e ecologicamente adequado (Lima Junior et al., 2012)

A fim de que se tenha uma melhor eficiência dos programas de controle biológico, precisa de estudos com avaliação destes agentes e com uma melhor atenção desta em campo, pois muitos traços de comportamentos têm influência na variação genética intraespecífica e sendo assim uma necessidade melhor de saber a capacidade de o agente biológico ter uma resposta às condições do ambiente e conseqüentemente a sua sobrevivência em campo (Coelho et al., 2016).

Um inimigo natural, o qual é considerado um agente de controle biológico para que o mesmo seja considerado eficiente ele precisa não só saber localizar e atacar o seu hospedeiro, mas é preciso que o mesmo consiga permanecer nesta área infestada com o seu hospedeiro até que tenha uma redução significativa desta praga (Coelho et al., 2016).

Os parasitoides de ovos com a maior utilização no programa de controle biológico são da espécie *Trichogramma*, sendo que existem cerca de 210 espécies descritas em todo mundo com relatos de parasitismo em mais de 400 espécies de artrópodes e entre esses estão inclusos as ordens de insetos que causam prejuízos econômicos, incluindo Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Díptera, Neuroptera. (Khan; Ruberson, 2017)

A alta exposição dos parasitoides adultos aos resíduos dos pesticidas e devido a sua mobilidade, os adultos destes podem ter contato com o residual de pesticidas em locais como substratos forrageiros, ovos do hospedeiro e para os pesticidas que são translocados pela planta (néctar, pólen) no caso do *Trichogramma* spp (Khan et al.,2015).

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi determinar os possíveis efeitos do pólen de algodão transgênico Bt (CRY1Ac + CRY1F) consumido como parte da dieta de *Trichogramma pretiosum* em algumas características de sua biologia.

Os objetivos específicos foram:

1. Comparar a longevidade de fêmeas de *T. pretiosum* alimentadas com dieta a base de mel, pólen de algodão Bt e com fêmeas alimentadas com mel e pólen de algodão convencional.
2. Comparar o parasitismo e a sua viabilidade, das fêmeas de *T. pretiosum* alimentadas com dieta a base de mel e pólen de algodão Bt e com fêmeas alimentadas com mel e pólen de algodão convencional.
3. Comparar a razão sexual de fêmeas de *T. pretiosum* alimentadas com dieta à base de mel e pólen de algodão Bt e com fêmeas alimentadas com mel e pólen de algodão convencional.
4. Comparar o número de indivíduos por ovos de fêmeas de *T. pretiosum* alimentadas com dieta a base de mel e pólen de algodão Bt e com fêmeas alimentadas com mel e pólen de algodão convencional.

Para isso, foi desenvolvido o seguinte trabalho:

Efeitos do pólen de algodão Bt (CRY1Ac + CRY1F) em algumas características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)

HIPÓTESE

O consumo de pólen de algodão transgênico Bt (CRY1AC + CRY1F) afeta as características biológicas do parasitoide *T. pretiosum*.

Referências Bibliográficas

- Adamczyk, J. J.; Gore, J.. 2004. Laboratory and field performance of cotton containing Cry1Ac, Cry1F, and both Cry1Ac and Cry1F (Widestrike®) against beet Armyworm and fall Armyworm Larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, [s.l.], v. 87, n. 4, p.427-432.
- Azimi, Solmaz et al.2014. Interaction Between Bt-Transgenic Cotton and the Whitefly's Parasitoid, *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal Of Plant Protection Research*, [s.l.], v. 54, n. 3, p.272-278, 1.
- Bashir, Oumar et al. 2016. Controlled-release of *Bacillus thuringiensis* formulations encapsulated in light-resistant colloidosomal microcapsules for the management of lepidopteran pests of Brassica crops. *Peerj*, [s.l.], v. 4, p.e2524-e2537.
- Brevault, T. et al.2013. Potential shortfall of pyramided transgenic cotton for insect resistance management. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [s.l.], v. 110, n. 15, p.5806-5811.
- Coelho, Aloisio et al. 2016. Laboratory Performance Predicts the Success of Field Releases in Inbred Lines of the Egg Parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Plos One*, [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-16.
- CONAB. Perspectivas para a agropecuária: Safra 2017/2018. Brasília: Conab, 2017. 5 v. Disponível em:
<https://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_09_06_09_30_08_perspectivas_da_agropecuaria_bx.pdf>. Acesso em: 16 dez. 2017.
- Funichello, Marina et al. 2013. Effect of transgenic and non-transgenic cotton cultivars on the development and survival of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal Of Agricultural Research*, [s.l.], v. 8, n. 44, p.5424-5428.
- Gayen, Srimonta et al. 2015. A deletion mutant ndv200 of the *Bacillus thuringiensis* vip3BR insecticidal toxin gene is a prospective candidate for the next generation of genetically modified crop plants resistant to lepidopteran insect damage. *Planta*, [s.l.], v. 242, n. 1, p.269-281.

Héma, Omer S. A. et al. 2017. Assessment of the effects of transgenic Bt cotton Bollgard II on the abundance of nontarget arthropods in Burkina Faso. *Agricultural And Forest Entomology*, [s.l.], v. 19, n. 4, p.433-438.

ISAAA. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. ISAAA: Ithaca, NY.

Khan, Muhammad Ashraf; Khan, Hizbullah; Ruberson, John R. 2015. Lethal and behavioral effects of selected novel pesticides on adults of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Management Science*, [s.l.], v. 71, n. 12, p.1640-1648.

Khan, Muhammad Ashraf; Ruberson, John R. 2017. Lethal effects of selected novel pesticides on immature stages of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Pest Management Science*, [s.l.], v. 73, n. 12, p.2465-2472.

Lima Junior, Izidro dos Santos de et al. 2012. Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. *Revista Agrarian, Dourados*, v. 5, n. 15, p.14-19.

Melo, Elmo Ponte de et al. 2015. Sobrevivência e desenvolvimento de lagartas de *Spodoptera frugiperda* e *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de algodoeiro geneticamente modificado. *Revista Agrogeoambiental*, [s.l.], v. 8, n. 3, p.79-88.

PARRA, José Roberto Postali et al (Ed.). 2002. Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores. São Paulo: Manole. 635 p.

Que, Qiudeng et al. 2010. Trait stacking in transgenic crops: Challenges and opportunities. *Gm Crops*, [s.l.], v. 1, n. 4, p.220-229.

Querino, Ranyse B.; Zucchi, Roberto A.. 2011. Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil. Brasília: Embrapa Informação Tecnologia. 103 p.

Tabashnik, Bruce e et al. 2010. Suppressing resistance to Bt cotton with sterile insect releases. *Nature Biotechnology*, [s.l.], v. 28, n. 12, p.1304-1307, 7.

Viana, Daniela de Lima et al. Parâmetros biológicos da lagarta falsa-medideira em cultivares de algodoeiro com as proteínas Cry1Ac e Cry1F. 2014. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s.l.], v. 49, n. 7, p.569-572.

CAPÍTULO II

Influência do pólen de algodão Bt (Cry1Ac + Cry1F) em características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:Trichogrammatidae)

*Artigo preparado de acordo com as normas do periódico Florida Entomologist

Anderson José da Silva Guimarães¹; Marcos Gino Fernandes²;

¹Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12. 79804-970 Dourados-MS, Brasil. E-mail:songuimaraes@gmail.com; marcosfernandes@ufgd.edu.br

Resumo

GUIMARÃES, A.J.S. Universidade Federal da Grande Dourados, Abril de 2018. Orientador: **Influência do pólen de algodão Bt (Cry1Ac + Cry1F) em características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:Trichogrammatidae)**

Marcos Gino Fernandes

Trichogramma faz parte do conjunto de inimigos naturais, presentes no meio ambiente, e estes são utilizados em programa de manejo integrado de pragas. O objetivo desta pesquisa foi determinar os possíveis efeitos do pólen de algodão transgênico Bt (CRY1Ac + CRY1F) consumido como parte da dieta das populações de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), em características de sua biologia. Foram realizados três tratamentos (dietas): pólen de algodão Bt, pólen de algodão não Bt e mel puro. Para cada tratamento utilizou-se 30 fêmeas recém-emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade). A biologia do parasitoide foi analisada por quatro gerações. O parasitismo apresentou diferença no tratamento com pólen Bt tendo uma baixa porcentagem de parasitismo na segunda geração. A terceira e quarta gerações apresentaram maior viabilidade do parasitismo no tratamento mel. Quanto ao número de indivíduos por ovos, a terceira (1,20) e a quarta (0,62) geração no tratamento com pólen Bt, apresentaram um maior número de indivíduos. Na razão sexual, a terceira geração obteve o maior valor (0,96), assim diferindo das demais. A terceira e quarta geração as fêmeas tiveram uma maior longevidade quando alimentadas com mel. A ingestão de pólen Bt via dieta, não influenciou de maneira expressiva as características biológicas do parasitoide *T. pretiosum* analisadas por quatro gerações.

Palavras chaves: *Gossypium hirsutum*, parasitoide, transgênico.

Abstract

GUIMARÃES, A.J.S. Federal University of Grande Dourados, April 2018.

Advisor: Marcos Gino Fernandes

The objective of this research was to determine the possible effects of transgenic cotton pollen Bt (CRY1Ac + CRY1F) consumed as part of the diet of the populations of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), in characteristics of its biology. Three treatments (diets) were made: Bt cotton pollen, non Bt cotton pollen and pure honey. For each treatment 30 newly emerged and mated females (between 24 and 36 h of age) were used. The biology of the parasitoid was analyzed by four generations. The parasitism presented a difference in the treatment with Bt pollen having a low percentage of parasitism in the second generation. The third and fourth generations showed greater viability of parasitism in honey treatment. Regarding the number of individuals per egg, the third (1.20) and the fourth (0.62) generation in the treatment with Bt pollen presented a larger number of individuals. In sex ratio, the third generation obtained the highest value (0.96), thus differing from the others. The third and fourth generation females had a longer longevity when fed with honey. The intake of Bt pollen via diet did not significantly influence the biological characteristics of *T. pretiosum* parasitoid analyzed by four generations.

Keywords: *Gossypium hirsutum*, parasitoid, transgenic.

Introdução

Com 49,1 milhões de hectares plantados com culturas biotecnológicas e uma representatividade de 27% da área global, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de culturas geneticamente modificadas (ISAAA,2016). A cultura do algodão tem se beneficiado significativamente com o advento das tecnologias transgênicas, principalmente os inimigos naturais, devido à redução das aplicações de inseticidas (Azimi et al., 2014).

Importantes inimigos naturais no agroecossistema algodoeiro são as várias espécies de *Trichogramma*, que são pequenas vespas parasitoides que se desenvolvem dentro dos ovos da maioria das espécies lepidópteros. Criação massal de *Trichogramma* é utilizada em larga escala como agente de controle biológico de pragas em diversas culturas agrícolas (Li 1994; Smith, 1996). *Trichogramma pretiosum* Riley 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é uma das mais importantes espécies desse parasitoide de ovos (Sousa et al., 2017).

Esse parasitoide, quando adulto, retira nutrientes para a sua sobrevivência através do néctar e do pólen, o que proporciona aumento da sua longevidade e fecundidade, maior propensão ao voo e aumento na capacidade de parasitismo (WANG et al., 2007). O pólen, em particular sua combinação com mel ou néctar, pode, ainda, ser um fator que influencia a eficiência do controle biológico de *Trichogramma* (Geng et al., 2006).

Existem, ainda, os efeitos indiretos das plantas geneticamente modificadas, pois podem afetar o desenvolvimento do parasitoide, bem como o tamanho do adulto e a sua capacidade de fecundidade (Arpaia et al. 2017). Ao estudar a abundância de artrópodes em ecossistemas de arroz transgênico, Lu et al. (2015) verificaram que havia uma menor abundância de parasitoides (Braconidae, Ichneumonidae, Pteromalidae e

Eurytomidae) em campos de arroz Bt, mas o declínio desses insetos já era esperado, pois a densidade populacional de larvas dos hospedeiros diminuem em campos de arroz Bt sendo que essa queda na quantidade de parasitoides acontece devido à toxina que é expressa na planta que ocasiona a morte dos seus hospedeiros.

Ao estudar o efeito de um bioinsecticida a base de Bt Bortoli et al. (2017) contra *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em Brássicas verificou que o mesmo não causou interferência na biologia do parasitoide *T.pretiosum*.

Ao fazer amostragem de artrópodes em diferentes culturas, Singh e Sharma, (2015), verificaram que apesar de o algodão Bt ter atrasado o desenvolvimento do parasitoide *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) observaram que não houve influencia do algodão Bt na abundância de inimigos naturais, concluindo que o algodão Bt não afetou, de forma geral, os inimigos naturais em condições de campo.

Visto que a integração de métodos de controle faz parte dos princípios do manejo integrado de pragas (MIP) a associação do controle biológico com a utilização de plantas geneticamente modificadas com resistência a insetos-pragas passou a ser uma ferramenta de suma importância na produção agrícola. Nesse sentido, é possível que o pólen do algodão Bt, usado como alimentação de parasitoides adultos, possa afetar características biológicas desses inimigos naturais. Perante o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a do pólen de algodão Bt, comparativamente com o pólen de algodão não-Bt, sobre as características biológicas de fêmeas adultas de *T.pretiosum*.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Procedência dos parasitoides

Os indivíduos adultos de *T. pretiosum* utilizados no presente estudo foram provenientes de criação mantida em sala climatizada sob temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $\pm 70\%$ e fotofase de 12 horas. Os indivíduos adultos foram mantidos em recipientes com dieta a base de mel puro conforme metodologia usada na criação e multiplicação do parasitoide *T. pretiosum* descrita por Parra (1997), com adaptações às condições do laboratório.

Hospedeiro (*Ephestia kuehniella*)

Foram utilizados, como hospedeiro de *T. pretiosum* ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes de criação mantida em laboratório (LAMI). Esse hospedeiro foi criado em dieta à base de farelo de trigo e levedo de cerveja.

A metodologia empregada na criação de *E. kuehniella* foi a desenvolvida por Parra (1997), com adaptações às condições do laboratório.

Fonte de Pólen

O pólen utilizado no experimento foi obtido do algodão transgênico Bt (Wide Strike) expressando a proteína Cry1Ac + Cry1F e o algodão sem expressão de toxinas Bt. O pólen de ambas as cultivares de algodão foi coletado no campo da Fazenda Experimental da Fundação MS, na cidade de Maracaju, MS.

As culturas a partir das quais foi coletado o pólen, foram mantidas sem aplicação de inseticidas durante o período de floração. Foram coletadas flores de algodão durante o período de antese. As flores foram levadas ao LAMI, onde o pólen foi retirado, peneirado, colocado em frascos plásticos e armazenados na geladeira na temperatura de 4°C (Wang et al., 2007).

Realização dos Bioensaios

Foram realizados três tratamentos (dietas): pólen de algodão convencional (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de algodão transgênico (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), e solução de mel puro (controle) (Wang et al, 2007).

Cada dieta foi utilizada como fonte de alimentação para 30 fêmeas recém-emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade), individualizadas em microtubos tipo Eppendorf (4,5 cm) contendo uma cartela de (4,5 x 0,9 cm) com 40 ovos de *E. kuehniella*. Em cada microtubo foi depositada em sua parede interna uma gota da respectiva fonte alimentar. O parasitismo foi permitido por 24h; depois disso, as fêmeas foram mortas e as cartelas com ovos parasitados foram mantidas no microtubo tipo Eppendorf fechado, e acondicionados em sala climatizada com as condições ambientais mencionadas anteriormente até a emergência dos descendentes.

As variáveis analisadas foram: duração do período de desenvolvimento de ovo até a fase adulta (dias), porcentagem de emergência (número de indivíduos emergidos por ovo), número de ovos parasitados (ovos com orifício), porcentagem de parasitismo (número de ovos parasitados dividido pelo número de ovos ofertados para o parasitismo multiplicado por 100), número de adultos emergidos por ovo (número de indivíduos emergidos dividido por número de ovos com orifício), longevidade das fêmeas (duração

em dias) e razão sexual (divisão do número de fêmeas pelo total de indivíduos emergidos), sendo estas fêmeas sexadas de acordo com Querino & Zucchi (2011).

Os procedimentos mencionados acima foram repetidos até a quarta geração, para a análise das variáveis propostas em cada uma das gerações.

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e 30 repetições avaliadas por quatro gerações. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) utilizando o programa Assistat versão 7.7 2017.

Resultados

Parasitismo

Houve efeito significativo entre as gerações no tratamento com pólen Bt, pois a segunda geração deferiu das demais, tendo a menor porcentagem de parasitismo. No tratamento com pólen convencional houve diferença significativa, sendo observado o maior parasitismo na terceira geração. (Tabela I).

Tabela I. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de algodão em 3 dietas diferentes Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) –UFGD, Dourados, MS, Brasil, 2018.

Parasitismo n=40 (%)		Mel + Pólen Bt	Mel + Pólen Convencional	Mel
		Geração 1*	39,33 ± 3,72 aA	40,25 ± 3,51 aA
Geração 2*	21,06 ± 1,12 bA	21,43 ± 4,10 bA	21,58 ± 3,21 cA	
Geração 3*	48,25 ± 2,98 aA	49,70 ± 3,31 aA	49,75 ± 4,04 aA	
Geração 4*	34,81 ± 4,48 aA	34,83 ± 5,72 abA	30,67 ± 3,78 bcA	
Média**	35,29 ± 2,03 C	35,86 ± 2,30 B	36,55 ± 2,04 A	

-Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-*Número de repetições (N) igual a 30.

-** Número de repetições (N) igual a 120.

-n = ao tamanho da unidade amostral.

Observou-se que a porcentagem de parasitismo independente do tratamento foi menor na segunda geração, enquanto na terceira geração houve maior porcentagem de parasitismo. Não houve diferença significativa entre as gerações estudadas nos diferentes tratamentos. Para o tratamento mel + pólen e o tratamento mel na primeira e

segunda geração, observa-se os mesmos valores da viabilidade do parasitismo. Porém utilizou-se elevado número de ovos (40) do hospedeiro para o parasitismo das fêmeas, visando determinar o máximo de ovos parasitados por fêmea, sendo que todas as quatro gerações do parasitoide avaliadas não apresentaram diferenças no parasitismo entre os tratamentos avaliados. (Tabela I).

No tratamento mel, ocorreu diferença significativa no parasitismo entre as gerações, onde a terceira geração teve o maior índice (49,75%) e a segunda geração resultou em menor índice (21,58%). Ao analisar as médias das quatro gerações, verifica-se que os três tratamentos diferiram entre si em relação ao índice de parasitismo, sendo que o tratamento mel (36,55%) foi maior que o tratamento com pólen convencional (35,86%), que por sua vez foi maior que o tratamento com pólen Bt (35,29%) obtendo-se uma diferença significativa entre os respectivos tratamentos pois o N é igual a 120. (Tabela I).

Viabilidade de parasitismo

No tratamento com pólen convencional houve diferença significativa entre viabilidade do parasitismo. No tratamento mel com pólen Bt não variou. (Tabela II).

No tratamento mel, variou entre as gerações, apresentando o mais alto índice na quarta geração (0,74). (Tabela II).

Não houve diferença significativa entre as gerações estudadas nos diferentes tratamentos. Para o tratamento mel+ pólen convencional e para o tratamento mel na primeira e segunda geração observa-se os menores valores. (Tabela II).

Ao analisar as médias das quatro gerações analisadas, observou-se que o tratamento mel + pólen Bt (0,52) teve o menor índice, enquanto o tratamento com mel (0,58) sobressaiu com o maior índice. (Tabela II).

Tabela II. Viabilidade do parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de algodão em 3 dietas diferentes Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) –UFGD, Dourados, MS, Brasil, 2018.

		Mel + Pólen Bt	Mel + Pólen Convencional	Mel
Viabilidade do parasitismo	Geração 1*	0,52 ± 0,05 aA	0,48 ± 0,05 abA	0,49 ± 0,04 bA
	Geração 2*	0,50 ± 1,51 aA	0,37 ± 0,06 bA	0,49 ± 0,07 bA
	Geração 3*	0,69 ± 0,02 aA	0,68 ± 0,03 aA	0,69 ± 0,02 aA
	Geração 4*	0,56 ± 0,08 aA	0,55 ± 0,07 abA	0,74 ± 0,07 aA
	Média**	0,52 ± 0,02 C	0,56 ± 0,03 B	0,58 ± 0,03 A

-Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-*Número de repetições (N) igual a 30.

-** Número de repetições (N) igual a 120.

Número de indivíduos por ovo

Para o número de indivíduos/ovo não foi observada diferença entre as gerações para o tratamento mel + pólen convencional e para o tratamento mel, entretanto para o tratamento mel + pólen Bt observou-se na terceira geração o maior número de indivíduos/ovo, diferindo dos demais tratamentos. (Tabela III).

Quando analisadas as médias das quatro gerações, averiguou-se que os tratamentos diferiram entre si, mostrando que o tratamento com pólen convencional (0,96) teve um maior número de indivíduos/ovo com relação ao tratamento com mel (0,90) e o tratamento com pólen Bt (0,90). (Tabela III).

Tabela III. Número de indivíduos por ovo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de algodão em 3 dietas diferentes Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) –UFGD, Dourados, MS, Brasil, 2018.

		Mel + Pólen Bt	Mel + Pólen Convencional	Mel
Nº de	Geração 1*	0,94 ± 0,07 abA	1,23 ± 0,34 aA	0,91 ± 0,07 aA
Indivíduos	Geração 2*	0,83 ± 1,53 bcA	0,63 ± 0,10 aA	0,82 ± 0,10 aA
/ ovo	Geração 3*	1,20 ± 0,05 aA	1,16 ± 0,05 aA	1,06 ± 0,07 aA
	Geração 4*	0,62 ± 0,08 cA	0,79 ± 0,11 aA	0,83 ± 0,07 aA
	Média**	0,90 ± 0,04 B	0,96 ± 0,09 A	0,90 ± 0,04 B

-Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-*Numero de repetições (N) igual a 30.

-** Número de repetições (N) igual a 120.

Razão sexual

No tratamento com pólen Bt, a terceira geração apresentou o maior índice (0,96), não diferindo das demais. No tratamento com pólen convencional houve diferença significativa entre a terceira e a quarta geração. No tratamento mel com pólen Bt, não ocorreu diferença significativa entre as gerações, sendo que mesmo com a variação de 0,96 na terceira geração, para 0,62 na quarta geração mostrando que os tratamentos não influenciaram esta característica em cada geração. (Tabela IV).

Ao analisar as médias das quatro gerações, verifica-se que os três tratamentos diferiram entre si, sendo que o tratamento com mel (0,80) foi maior que o tratamento com pólen Bt (0,77), que por sua vez foi maior que o tratamento com pólen convencional (0,73). (Tabela IV).

Tabela IV. Razão Sexual de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de algodão em 3 dietas diferentes Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) –UFGD, Dourados, MS, Brasil, 2018.

		Mel + Pólen Bt	Mel + Pólen Convencional	Mel
Razão Sexual (1:1)	Geração 1*	0,80 ± 0,06 abA	0,79 ± 0,07 abA	0,85 ± 0,06 aA
	Geração 2*	0,69 ± 1,55 bA	0,53 ± 0,09 bA	0,69 ± 0,08 aA
	Geração 3*	0,96 ± 0,01 aA	0,95 ± 0,03 aA	0,89 ± 0,05 aA
	Geração 4*	0,62 ± 0,08 bA	0,65 ± 0,08 bA	0,79 ± 0,07 aA
	Média**	0,77 ± 0,03 B	0,73 ± 0,03C	0,80 ± 0,03A

-Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-*Número de repetições (N) igual a 30.

-** Número de repetições (N) igual a 120.

Longevidade de fêmeas

No tratamento com pólen convencional observou-se uma diferença significativa na longevidade, havendo diferença significativa, entre a segunda (0,69) e a terceira geração (0,96). Já no tratamento mel, a terceira (20,03) e quarta (21,63) geração foi onde as fêmeas deste tratamento viveram mais dias. No tratamento mel com pólen Bt, quando analisada a longevidade dos descendentes em cada geração, também, não foi encontrada diferença significativa entre seus tratamentos. Os tratamentos não influenciaram o parâmetro longevidade em cada geração. (Tabela V).

Quando comparadas as médias das quatro gerações, observou-se que ocorreu diferença estatística nos tratamentos analisados, mostrando assim que o quando as fêmeas de *T. pretiosum*, alimentadas com mel (18,15) tiveram uma maior longevidade,

e o tratamento com pólen Bt (16,46) foram onde estas tiveram uma menor longevidade, essa diferença na média das quatro gerações foi de dois dias. (Tabela V).

Tabela V. Longevidade das Fêmeas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de algodão em 3 dietas diferentes Laboratório de Amostragem e Monitoramento de Insetos (LAMI) –UFGD, Dourados, MS, Brasil, 2018.

		Mel + Pólen Bt	Mel + Pólen Convencional	Mel
Longevidade Fêmeas (Dias)	Geração 1*	15,30 ± 1,03abA	16,86 ± 0,74abA	15,96 ± 0,91bA
	Geração 2*	13,46 ± 0,75bA	15,53 ± 0,56bA	15,00 ± 0,66bA
	Geração 3*	18,56 ± 0,67 aA	18,76 ± 0,89 aA	20,03 ± 0,53 aA
	Geração 4*	18,53 ± 1,27aA	18,36 ± 1,17abA	21,63 ± 0,70aA
	Média**	16,46 ± 0,51C	17,38 ± 0,44B	18,15 ± 0,43A

-Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

-*Número de repetições (N) igual a 30.

-** Número de repetições (N) igual a 120.

Discussão

Os parasitoides podem fazer a ingestão de proteínas Bt ao se alimentarem das plantas (pólen e néctar) e ao se alimentar em hospedeiros (ovo, larva ou inseto adulto), e não ocorrem efeitos diretos desta toxina na abundância destes em campo (Guo et al.; 2016), sendo que esses inimigos naturais, em sua fase adulta, consomem o pólen e néctar das flores e a concentração da toxina pode variar nessas estruturas (Székács et al., 2010)

O presente estudo mostrou que as características biológicas de *T. pretiosum* tiveram poucas alterações diante a introdução do pólen transgênico na sua dieta. Assim sendo, certamente, a alimentação dos adultos com pólen e/ou néctar nas plantas de algodão transgênico não deverá afetar a biologia ou a performance desse parasitoide em campo.

O parasitismo de *Trichogramma* em laboratório pode ser afetado por diversos fatores, tais como a espécie de hospedeiro alternativo que se usa na criação massal e a idade dos ovos (Pratissoli; Oliveira,1999). Através dos resultados obtidos, podemos considerar que a porcentagem de parasitismo observado no laboratório, foi menor que a observada em outros estudos (Almeida et al., 1998), se deu em função do elevado número de ovos utilizados nas cartelas com ovos. Sabe-se que em laboratório, uma fêmea de *T. pretiosum* pode parasitar entre 20 a 30 ovos de *E. kuehniella* (Sousa et al., 2017), mas nesta presente pesquisa utilizou-se 40 ovos desse hospedeiro para determinar o máximo possível de parasitismo em laboratório. E, mesmo após a análise das médias das quatro gerações, observou-se que o pólen Bt não causou alteração no parasitismo do inseto em questão, mostrando que possivelmente essa característica da biologia do *T. pretiosum* não será afetada em campo.

Também não foram observados efeitos de pólen de algodão transgênico (Cry1Ac) em outra espécie de *Trichogramma*, *T. chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), na vida adulta deste parasitoide em relação aos parâmetros: viabilidade do parasitismo; número de indivíduos por ovos e razão sexual, porém, ocorreram baixos índices de parasitismo que a utilização do pólen Bt não pode explicar (Geng et al., 2006).

A razão sexual dos adultos alimentados com pólen Bt, deve ser considerada ótima para utilização do parasitoide em programas de controle biológico. Pois para ser

considerada satisfatória como estratégia de controle biológico, a razão sexual precisa atingir a faixa mínima de 0,5 (Spagnol et al, 2017). Na presente pesquisa a razão sexual dos adultos alimentados com o pólen Bt manteve essa faixa ideal de 0,5.

Em estudo com *T. pretiosum* alimentado com pólen de milho, chegou-se a conclusão de que o pólen de milho transgênico não afeta as características biológicas desse parasitoide. Mas que o volume do ovo é o fator de principal influência quando se trata do número de indivíduos por ovo e, conseqüentemente, no tamanho do indivíduo adulto (Souza, et al., 2017), pois, de acordo com o tamanho do ovo, pode variar a quantidade de recursos nutricionais disponíveis a este indivíduo (Nava et al., 2007; Dias et al., 2008). De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, a grande maioria dos ovos apresentaram apenas um indivíduo emergido, porém, alguns poucos apresentaram dois adultos, sugerindo que o tamanho do ovo de *E. kuehniella* pode resultar em até dois adultos de *T. pretiosum*.

Sabe-se que ao utilizar bioinseticidas a base de Bt, o mesmo não causa danos a biologia do parasitoide *T. pretiosum* contra *P. xylostella* em Brássicas (Bortoli et al. 2017), bem como ocorreu neste trabalho ao avaliar o efeito da toxina expressa no algodão Bt que não alterou a biologia do parasitoide *T. pretiosum*. Porém, há relatos de que o algodão Bt tem atrasado o desenvolvimento do parasitoide *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) (Azimi, et al. 2014), da mesma maneira em que, neste trabalho, o pólen do algodão Bt diminuiu a porcentagem de parasitismo do parasitoide *T. pretiosum* apenas na segunda geração, mas não afetou a sua biologia.

Em avaliações realizadas em campo, observou-se que não há influência do algodão Bt na abundância de parasitoides (Singh e Sharma, 2015), bem como nos resultados obtidos nesta pesquisa em que na quarta geração houve diminuição na porcentagem de indivíduos adultos emergidos por ovo, (Tabela III) mas não afetou essa

característica biológica, mostrando que o pólen Bt possivelmente não terá influência na abundância deste parasitoide em campo.

A longevidade é de suma importância para um programa de controle biológico, pois pesquisas apontam que parasitoides que possuem uma maior longevidade, conseqüentemente, terão uma melhor eficiência no campo, sendo capazes de parasitar por muito mais tempo (Sousa et al. 2017). Neste trabalho ficou evidente que as fêmeas da segunda geração quando alimentadas com o pólen Bt, tiveram uma menor longevidade, mostrando que essa característica biológica não foi afetada.

Ficou evidente que a utilização do algodão Bt (Cry 1Ac +Cry1F) torna-se conciliável com o uso do parasitoide *T. pretiosum* em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois o pólen dessa tecnologia não afetou, de maneira significativa, as características biológicas desse parasitoide durante quatro gerações.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

Referências Bibliográficas

- Almeida, Raul Porfírio de et al. 1988. Biotecnologia de produção massal e manejo de *Trichogramma* para o controle biológico de pragas. Campina Grande: Embrapa,. 61 p.
- Arpaia, Salvatore et al. 2017. Assessing environmental impacts of genetically modified plants on non-target organisms: The relevance of in planta studies. *Science Of The Total Environment*, [s.l.], v. 583, p.123-132.
- Azimi, Solmaz et al. 2014. Interaction between Bt-transgenic cotton and the whitefly's parasitoid, *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal Of Plant Protection Research*, Poznań, Polônia, v. 54, n. 3, p.272-278.
- Bortoli, Sergio Antonio de et al. 2017. Effect of *Bacillus thuringiensis* on Parasitoids and Predators. *Bacillus thuringiensis And Lysinibacillus sphaericus*, [s.l.], p.67-77.
- Dias Nivia da Silva, Parra José Roberto Postali, Lima Tiago Cardoso da Costa. 2008. Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramátídeos neotropicais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 43:1467-1473.
- Figueiredo, Maria de Lourdes Corrêa et al. 2015. Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. *Agronomy For Sustainable Development*, [s.l.], v. 35, n. 3, p.1175-1183.
- Geng, Jin-hu et al. 2006. Effect of Pollen of Regular Cotton and Transgenic BtCpTI Cotton on the Survival and Reproduction of the Parasitoid Wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the Laboratory. *Environmental Entomology*, [s.i], v. 35, n. 6, p.1661-1668..
- Guo, Jingfei et al. 2016. Field trials to evaluate the effects of transgenic cry1Ie maize on the community characteristics of arthropod natural enemies. *Scientific Reports*, [s.l.], v. 6, n. 1, p.1-12.
- ISAAA. 2016. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. ISAAA: Ithaca, NY.

Li, Li-Ying. 1994. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey. p37-53. In E. Wajnberg, & S. A. Hassan. (eds.). Biological control with egg parasitoids. Wallingford, CAB International, 286p.

Lu, Zengbin et al. 2015. The New Transgenic cry1Ab/vip3HRice Poses No Unexpected Ecological Risks to Arthropod Communities in Rice Agroecosystems. Environmental Entomology, [s.l.], v. 45, n. 2, p.518-525.

Nava, Dori Edson, Takahashi Karina Manami, Parra José Roberto Postali. 2007. Linhagens de *Trichogramma* e Trichogrammatoidea para o controle de *Stenoma catenifer*. Pesquisa Agropecuária Brasileira.42:9- 16.

Olson, D.m.; Andow, D.a.. 2006. Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera; Trichogrammatidae) on various surfaces. Biological Control, [s.l.], v. 39, n. 3, p.329-335.

Parra, José Roberto Postali.1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba:FEALQ. 324 p.

Pratissoli, Dirceu; OLIVEIRA, Harley Nonato de. 1999. Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s.l.], v. 34, n. 5, p.891-896.

Querino, Ranyse B; Zucchi, Roberto A .2011. Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil. 1 ed. Brasília,. DF/Embrapa Informações Tecnológica, 103p.

Silva FAS, Azevedo CAV. 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African Journal of Agricultural Research.

Vol 11(39), pp. 3733-3740, 29 September. DOI: 10.5897/AJAR2016.11522.

Singh, Subash; Sharma, D. K.. 2015. Impact of Different Transgenic Crops (Bt) on Insect Biocontrol Agents. International Journal Of Life Sciences Research, [s.i], v. 3, n. 1, p.214-229.

Smith, S. M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: Advances, successes, and potencial of their use. Annual Review of Entomology 41: 375-406.

Sousa, Maria F. de; Fernandes, Marcos Gino; Mota, Thiago Alexandre. 2017. Biology of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Fed Transgenic Maize Pollen. Florida Entomologist, [s.l.], v. 100, n. 3, p.653-656.

Spagnol, Daniel et al. 2017. Compatibilidade de Milho Transgênico com o parasitoide *Trichogramma pretiosum*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, [s.l.], v. 16, n. 1, p.43-51.

Székács, András et al. 2010. Cry1Ab toxin production of MON 810 transgenic maize. Environmental Toxicology And Chemistry, [s.l.], v. 29, n. 1, p.182-190.

Wang, Zhen-ying et al. 2007. Effects of transgenic Bt maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. Bulletin Of Insectology, [si], v. 60, n. 1, p.49-55.